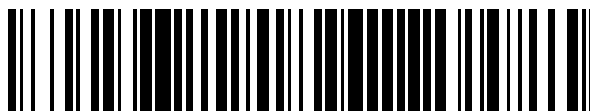


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 728 447**

51 Int. Cl.:

A61K 38/46 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.12.2012** **PCT/US2012/071495**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.06.2013** **WO13096912**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2012** **E 12860231 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.04.2019** **EP 2793933**

54 Título: **Tratamiento del déficit cognitivo del síndrome de Hunter para la administración intratecal de iduronato-2-sulfatasa**

30 Prioridad:

23.12.2011 US 201161580027 P
25.01.2012 US 201261590797 P
25.01.2012 US 201261590804 P
09.03.2012 US 201261609173 P
06.12.2012 US 201261734365 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.10.2019

73 Titular/es:

SHIRE HUMAN GENETIC THERAPIES, INC.
(100.0%)
300 Shire Way
Lexington, MA 02421, US

72 Inventor/es:

BARBIER, ANN;
MCCAULEY, THOMAS y
RICHARD, CHARLES, W., III

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 728 447 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Tratamiento del déficit cognitivo del síndrome de Hunter para la administración intratecal de iduronato-2-sulfatasa

5 ANTECEDENTES

[0001] El síndrome de Hunter, también conocido como mucopolisacaridosis tipo II (MPS II), es una enfermedad de almacenamiento lisosomal causada por deficiencia o ausencia de enzima, iduronato-2-sulfatasa (I2S). La iduronato-2-sulfatasa interviene en la descomposición y reciclaje de mucopolisacáridos específicos, también conocidos como glicosaminoglicanos o GAG. Como resultado, en el síndrome de Hunter, GAG se acumula en las células de todo el cuerpo, lo que interfiere con la función normal de varias células y órganos en el cuerpo, dando como resultado una serie de síntomas graves. En muchos casos del síndrome de Hunter, a menudo hay una gran acumulación de GAG en las neuronas y meninges de los individuos afectados, lo que lleva a diversas formas de síntomas del SNC, rendimiento cognitivo deteriorado y retrasos en el desarrollo.

[0002] La terapia de reemplazo enzimático (ERT) se ha utilizado para tratar el síndrome de Hunter. La terapia aprobada usa la administración intravenosa de la enzima I2S recombinante. Sin embargo, la enzima administrada por vía intravenosa generalmente no atraviesa adecuadamente la barrera hematoencefálica (BBB) hacia las células y tejidos del SNC. Por lo tanto, el tratamiento de los síntomas del síndrome de Hunter en el SNC ha sido especialmente desafiante. Los documentos WO 2011/163648 A1 y WO 2011/163649 A2 describen enzimas I2S para su uso en un método para tratar el síndrome de Hunter que comprende la administración intratecal de la enzima I2S.

SUMARIO

[0003] En el presente documento se describe una enzima iduronato-2-sulfatasa (I2S) recombinante para su uso en un método para tratar el síndrome de Hunter, en particular, el síndrome de Hunter con deterioro cognitivo basado en la administración intratecal de la enzima iduronato-2-sulfatasa (I2S) recombinante. La presente divulgación se basa, en parte, en el primer estudio clínico en humanos que demuestra la seguridad, la tolerabilidad y la eficacia de la administración intratecal de la enzima I2S en pacientes con síndrome de Hunter (MPS II) (por ejemplo, de 3 a 12 años de edad) Con evidencia de deterioro cognitivo. Por ejemplo, como se describe en la sección de ejemplos a continuación, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante fue segura, bien tolerada y resultó en una reducción significativa de los niveles de GAG en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de los pacientes en todos los grupos de dosis, incluida la dosis de IT tan baja como 1 mg por dosis. En muchos casos, la disminución de GAG en el LCR fue evidente después de la primera dosis de IT de la enzima I2S. Dado que el nivel de GAG en el LCR es un indicador importante de la actividad farmacodinámica de I2S en el compartimento intratecal, estos resultados demuestran que el I2S administrado por vía intratecal tiene una actividad farmacodinámica inesperadamente superior en el SNC. De acuerdo con esta observación, el I2S administrado por vía intratecal también produjo una estabilización o mejoría en el rendimiento cognitivo, incluidas las funciones neurocognitivas, adaptativas y/o ejecutivas, en varios pacientes después de recibir solo 6 meses de tratamiento con la administración intratecal de la enzima I2S. Este primer estudio clínico en humanos confirma que la administración intratecal de la enzima I2S recombinante es un método seguro y eficaz para tratar el síndrome de Hunter. En particular, los datos cognitivos de este primer ensayo clínico en humanos demuestran que la administración intratecal de la enzima I2S puede usarse para tratar con eficacia los síntomas del síndrome de Hunter en el SNC, lo que resulta en la estabilización o mejora del rendimiento cognitivo. Se contempla que una duración más prolongada del tratamiento en pacientes que inician la terapia intratecal al principio de la trayectoria de deterioro del desarrollo neurológico puede ser particularmente eficaz en el tratamiento del deterioro cognitivo.

[0004] La presente invención proporciona una enzima de iduronato-2-sulfatasa recombinante (I2S) para su uso en un método para tratar el síndrome de Hunter en un paciente humano, en el que la enzima I2S recombinante se administra por vía intratecal a un sujeto en necesidad de tratamiento en una dosis terapéuticamente efectiva de 10 mg o 30 mg y un intervalo de administración mensual durante un período de tratamiento suficiente para (i) mejorar, estabilizar o reducir la disminución de una o más funciones cognitivas, adaptativas, motoras y/o ejecutivas en relación con un control, o ii) disminuir el nivel de glicosaminoglicano (GAG) en el líquido cefalorraquídeo (LCR) en relación con un control. Como se usa en el presente documento, los términos "mejorar", "estabilizar" o "reducir", o equivalentes gramaticales, indican una evaluación o medición de las funciones cognitivas, adaptativas, motoras y/o ejecutivas (por ejemplo, puntajes de pruebas cognitivas) que son relativos a una evaluación o medición de referencia, como una evaluación o medición en el mismo individuo antes del inicio del tratamiento, o una evaluación o medición en un individuo de control (o individuos de control múltiple) en ausencia del tratamiento. Un "individuo de control" es un individuo afectado por el síndrome de Hunter como el individuo que está siendo tratado, que tiene aproximadamente la misma edad que el individuo que está siendo tratado (para asegurar que las etapas de la enfermedad, así como la etapa de desarrollo infantil, en el individuo tratado y el (los) individuo(s) de control son comparables).

[0005] En algunas realizaciones, una dosis terapéuticamente eficaz adecuada, una vez administrada regularmente en el intervalo de modo de gestión, los resultados en suero AUC_{ss} de la enzima I2S recombinante en un intervalo de aproximadamente 200.000 a aproximadamente 1.000.000 min.ng/mL (por ejemplo, desde aproximadamente

250.000 min.ng/mL hasta aproximadamente 900.000 min.ng/mL, desde aproximadamente 300.000 min.ng/mL hasta aproximadamente 800.000 min.ng/mL, desde aproximadamente 350.000 min.ng/mL hasta aproximadamente 700.000 min.ng/mL, desde aproximadamente 400.000 min.ng/mL hasta aproximadamente 600.000 min.ng/mL).

[0006] En algunas realizaciones, una dosis terapéuticamente eficaz adecuada, una vez que se administra regularmente en el intervalo de modo de gestión, los resultados de la concentración sérica máxima (C_{max}) de la enzima I2S recombinante en un intervalo de aproximadamente 60 a aproximadamente 300 ng/ml (por ejemplo, desde aproximadamente 70 a aproximadamente 250 ng/ml, desde aproximadamente 70 a aproximadamente 200 ng/ml, desde aproximadamente 70 a aproximadamente 150 ng/ml, desde aproximadamente 80 a aproximadamente 250 ng/ml, de aproximadamente 80 a aproximadamente 200 ng/ml, de aproximadamente 80 a aproximadamente 150 ng/ml, de aproximadamente 90 a aproximadamente 250 ng/ml, de aproximadamente 90 a aproximadamente 200 ng/ml, de aproximadamente 90 a aproximadamente 150 ng/mL).

[0007] En algunas realizaciones, el intervalo de administración adecuada es semanal, una vez cada dos semanas, dos veces al mes, una vez cada tres semanas, mensualmente, una vez cada dos meses, una vez cada tres meses, una vez cada cuatro meses, una vez cada cinco meses, una vez cada seis meses, dos veces al año, una vez al año, o en un intervalo variable. Como se usa en este documento, mensual es equivalente a una vez cada cuatro semanas.

[0008] En algunas realizaciones, la administración intratecal es a través de la punción lumbar. En algunas realizaciones, la administración intratecal es a través de un reservorio de Ommaya. En algunas realizaciones, la administración intratecal es a través del acceso intermitente o continuo a un dispositivo de administración intratecal de fármacos implantado (IDDD). En algunas realizaciones, la administración intratecal es a través del acceso continuo a un IDDD implantado para, por ejemplo, más de 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5 o 5,0 horas.

[0009] En algunas realizaciones, un periodo de tratamiento es de al menos 2, 3, 4,5, 6, 8, 10, 12, 18, 24, o más meses. En algunas realizaciones, un periodo de tratamiento es al menos 1, 2, 3, 4,5, 6, 7, 8, 9, 10 años o más. En algunas realizaciones, un periodo de tratamiento es el tiempo de vida del sujeto que se está tratando.

[0010] En algunas formas de realización, una o más funciones cognitivas, adaptativas, motoras y/o ejecutivas se evalúan mediante las Escalas de Habilidad Diferencial-Segunda Edición (DAS-II). En algunas realizaciones, la evaluación DAS-II se realiza mediante una puntuación bruta, una puntuación de grupo, una puntuación estandarizada, un percentil de edad equivalente o un cociente de desarrollo. En algunas realizaciones, la evaluación DAS-II es por un puntaje de capacidad conceptual general (ACG). En algunas realizaciones, una o más funciones cognitivas, adaptativas, motoras y/o ejecutivas son evaluadas por Bayley Scales of Infant Development Version III (BSID-III).

[0011] En algunas realizaciones, la administración intratecal de los resultados de la enzima I2S recombinantes en calificación mejorada GCA o el cociente de desarrollo BSID-III (DQ) respecto a un control (por ejemplo, la puntuación pre-tratamiento de línea de base). En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante mejora la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III en aproximadamente 5, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30 puntos o más en comparación con un control (p. ej., puntuación inicial previa al tratamiento). En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante mejora la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III en aproximadamente un 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50% o más en comparación con un control (p. ej., puntuación inicial antes del tratamiento). En algunas realizaciones, la puntuación GCA mejorada o el cociente de desarrollo BSID-III está dentro del rango de 85-105 dentro del rango de aproximadamente 70-105 (por ejemplo, aproximadamente 75-105, 75-100, 70-100, 70-95, 70-90, 75-105, 75-100, 75-95, 75-90, 80-105, 80-100, 80-95, 80-90, 85-105, 85-100, o 85-95). En algunas realizaciones, la puntuación GCA mejorada o el cociente de desarrollo BSID-III es o mayor que aproximadamente 70, 75, 80, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, o 105 puntos. En algunas realizaciones, la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III se mide después de un periodo de tratamiento de 3, 4,5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o 18 meses. En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante mantiene la puntuación GCA mejorada o el cociente de desarrollo BSID-III durante un periodo de o más de 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, o 36 meses. Como se usa en este documento, mantener la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III significa que el cambio de la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III es menor que 10, 9, 8, 7, 6 o 5 puntos dentro de un periodo de 3, 6, 8, 10, 12 meses o el cambio de la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III durante un periodo de 3, 6, 8, 10, 12 meses está dentro del 20%, 15%, 10%, 5% de la media sobre tal periodo.

[0012] En algunas realizaciones, la administración intratecal de los resultados de la enzima I2S recombinantes en la estabilización de la GCA calificación o el BSID-III cociente de desarrollo respecto a un control (por ejemplo, la puntuación pre-tratamiento de línea de base). En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante da como resultado la estabilización de la puntuación GCA o del cociente de desarrollo BSID-III en relación con la puntuación inicial antes del tratamiento después de un periodo de tratamiento de o más de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 meses, o 1, 2, 3, 4, 5, 10 años. Como se usa en este documento, la estabilización de la

puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III significa que el cambio de la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III desde la línea de base es inferior a 10, 9, 8, 7, 6 o 5 puntos dentro de 3, 6, 8, 10, 12 meses o el cambio de la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III durante un período de 3, 6, 8, 10, 12 meses dentro del 20%, 15%, 10%, 5% de la media sobre tal periodo. En algunos casos, la estabilización de la puntuación de GCA o el cociente de desarrollo BSID-III significa que el cambio de la puntuación de GCA o el cociente de desarrollo BSID-III desde la línea de base es inferior al 20%, 15%, 10%, 5% dentro de 3, 6, 8, 10, 12 meses. En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante da como resultado la estabilización de la puntuación GCA o del cociente de desarrollo BSID-III después de la disminución inicial de la puntuación GCA o del cociente de desarrollo BSID-III. Por ejemplo, la estabilización puede seguir después de una disminución de no menos del 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15% o 10% de la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III desde la línea de base. En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante estabiliza la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III durante un período de o más de 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, o 36 meses. En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante estabiliza la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III durante un período de 3-36 meses (por ejemplo, 3-33, 3-30, 3-27, 3-24, 3-21, 3-18, 3-15, 3-12, 3-9, 3-6, 6-36, 6-33, 6-30, 6-27, 6-24, 6-21, 6-18, 6-15, 6-12, 6-9 meses).

[0013] En algunas realizaciones, la administración intratecal de los resultados de la enzima I2S recombinantes en reducida disminución de la puntuación de GCA o cociente de desarrollo BSID-III. En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante da como resultado la disminución anual de la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III inferior a aproximadamente 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, o 10 puntos. En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante da como resultado la disminución anual de la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III inferior a aproximadamente 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15% o 10%. En algunas realizaciones, la reducción reducida de la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III se logra después de un período de tratamiento de o más de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 meses, o 1, 2, 3, 4, 5, 10 años.

[0014] En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante adicional como resultado una mejora o estabilización de una o más funciones de adaptación evaluadas por las Escalas de Comportamiento Independiente-Revisado (SIB-R). En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante da como resultado una mejoría o estabilización de una o más funciones ejecutivas evaluadas por el Inventario de Evaluación de la Conducta de la Función Ejecutiva (BRIEF).

[0015] La presente invención se puede usar para tratar a un sujeto de diversas edades. En algunas realizaciones, un sujeto que está siendo tratado tiene al menos 6 meses de edad, 12 meses de edad, al menos 18 meses de edad, 2 años de edad, 2,5 años de edad, 3 años de edad, 3,5 años de edad, 4 años de edad, 4,5 años de edad, o 5 años de edad. En algunas realizaciones, un sujeto que está siendo tratado tiene menos de 5 años, 4,5, 4, 3,5, 3, 2,5, 2 o 1,5 años. En algunas realizaciones, un sujeto que está siendo tratado es menor de 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 mes de edad. En algunas realizaciones, un sujeto que está siendo tratado es menor de 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 día(s) de edad. En algunas realizaciones, un sujeto que está siendo tratado está dentro del rango de edad de 0 meses a 8 años, 3 meses a 8 años, 6 meses a 8 años, 8 meses a 8 años, 1 año a 8 años, 3 meses a 7 años, 6 meses a 7 años, 8 meses a 7 años, 1 año a 7 años, 3 meses a 6 años, 6 meses a 6 años, 8 meses a 6 años, 1 año a 6 años, 3 meses a 5 años, 6 meses a 5 años, 8 meses a 5 años, 1 año a 5 años, 3 meses a 4 años, 6 meses a 4 años, 8 meses a 4 años, 1 año a 4 años, 3 meses a 3 años, 6 meses a 3 años, 8 meses a 3 años, 1 año a 3 años, 3 meses a 2 años, 6 meses a 2 años, 8 meses a 2 años, o 1 año a 2 años, 3 meses a 1 año, 6 meses a 1 año, o 8 meses a 1 año de edad.

[0016] En algunas realizaciones, un sujeto que está siendo tratado tiene deterioro cognitivo. En algunas realizaciones, un sujeto que está siendo tratado tiene una puntuación GCA o un cociente de desarrollo BSID-III inferior a 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 15, 10 o no comprobable antes del tratamiento. En algunas realizaciones, un sujeto que está siendo tratado tiene una puntuación GCA o un cociente de desarrollo BSID-III declinado desde la línea de base normal menos de aproximadamente 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15% o 10% antes del tratamiento. En algunas realizaciones, un sujeto que está siendo tratado tiene una puntuación GCA o un cociente de desarrollo BSID-III que oscila entre aproximadamente 60-100 (por ejemplo, aproximadamente 60-95, 60-90, 60-85, 60-80, 60-75, 60-70, 70-100, 70-95, 70-90, 70-85, 70-80, 80-100, 80-95, 80-90) antes del tratamiento.

[0017] En diversas realizaciones, la administración intratecal se realiza conjuntamente con la administración intravenosa de la enzima I2S recombinante. En algunas realizaciones, la administración intravenosa de la enzima I2S recombinante es semanal. En algunas realizaciones, la administración intravenosa de la enzima I2S recombinante es semanal, excepto la semana en que se realiza la administración intratecal. En algunas realizaciones, la administración intravenosa de la enzima recombinante I2S es quincenal, una vez cada tres semanas, mensualmente, dos veces al mes, una vez cada dos, tres, cuatro, cinco o seis meses. En algunas realizaciones, la administración intravenosa de la enzima I2S recombinante es a una dosis de aproximadamente 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 o 1,0 mg/kg de peso corporal. En algunas realizaciones, la administración intravenosa de la enzima I2S recombinante es a una dosis de aproximadamente 0,5 mg/kg de peso corporal.

[0018] En algunas realizaciones, la dosis y/o el intervalo de administración para la administración intratecal y/o

intravenosa puede ser ajustado (por ejemplo, aumentado o disminuido) basado en el GCA, BSID-III, SIB-R, y/o calificación BRIEF.

[0019] En diversas realizaciones, la administración intratecal de acuerdo con la invención resulta en efectos adversos graves en el sujeto. En diversas realizaciones, la administración intratecal según la invención no requiere un inmunosupresor.

[0020] Tal como se utiliza aquí, el término "disminución", o equivalente, tal como "reducir", o equivalentes gramaticales, indican una medición del nivel de GAG que es relativo a una medición de línea de base, tal como una medición en el mismo individuo antes de la iniciación del tratamiento, o una medición en un individuo control (o individuos de control múltiples) en ausencia del tratamiento.

[0021] Como se usa en este documento, un intervalo de administración mensual es equivalente a la administración una vez cada cuatro semanas.

[0022] En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante da como resultado el nivel de GAG en el CSF inferior a aproximadamente 1.000 ng/ml (por ejemplo, inferior a aproximadamente 900 ng/ml, 800 ng/ml, 700 ng/ml, 600 ng/ml, 500 ng/ml, 400 ng/ml, 300 ng/ml, 200 ng/ml, 100 ng/ml, 50 ng/ml, 10 ng/ml o 1 ng/ml).

[0023] En diversas realizaciones, la presente invención comprende además una etapa de ajuste de la dosis y/o intervalo de administración para la administración intratecal y/o intravenosa basado en el nivel de GAG en el CSF. En algunas realizaciones, la etapa de ajuste comprende aumentar la dosis terapéuticamente efectiva para la administración intratecal si el nivel de GAG en el CSF no disminuye con respecto al control después de 6, 5, 4 o 3 dosis. En algunas realizaciones, la etapa de ajuste comprende aumentar la dosis terapéuticamente eficaz para la administración intratecal si el nivel de GAG en el CSF no disminuye con respecto al control después de 4 dosis.

[0024] En algunas realizaciones, el uso descrito en el presente documento es para tratar a un sujeto que tiene deterioro cognitivo.

[0025] En algunas realizaciones, el uso descrito en el presente documento es para la estabilización o la mejora del rendimiento cognitivo en un sujeto que tiene síndrome de Hunter.

[0026] Como se usa en esta solicitud, los términos "sobre" y "aproximadamente" se utilizan como equivalentes. Cualquier número utilizado en esta solicitud con o sin alrededor de/aproximadamente está destinado a cubrir cualquier fluctuación normal apreciada por un experto en la técnica relevante.

[0027] Otras características, objetos, y ventajas de la presente invención son evidentes en la descripción detallada que sigue. Debe entenderse, sin embargo, que la descripción detallada, si bien indica realizaciones de la presente invención, se proporciona solo a modo de ilustración, no de limitación.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0028] Los dibujos son para fines de ilustración solamente, y no para limitación.

Las Figuras 1-4 ilustran un modelo ejemplar de I2S en suero y LCR.

La Figura 5 ilustra los parámetros farmacocinéticos de la población a escala alométrica a modo de ejemplo para la administración de IT-I2S en sujetos pediátricos, después de corregir las diferencias entre los primates no humanos y los niños que usan un cerebro y un peso corporal.

La Figura 6 ilustra las concentraciones séricas de I2S a escala de peso corporal a modo de ejemplo, tanto en sujetos pediátricos como en monos después de la dosificación de IT-L.

La Figura 7 ilustra el perfil de concentración sérica observada y predicha de I2S en pacientes pediátricos, después de una única infusión IV.

La Figura 8 ilustra el perfil de concentración sérica observada y predicha de I2S en sujetos pediátricos, después de una administración única de 10 mg de IT-L.

La Figura 9 ilustra el perfil de concentración sérica observada y predicha de I2S en pacientes pediátricos después de una administración única de 10 mg de IT-L. Se muestra el perfil de concentración ejemplar tanto para lo observado como para lo predicho, con o sin corrección para el peso del cerebro y del cuerpo.

La Figura 10 ilustra el muestreo de I2S en suero y LCR de pacientes pediátricos a lo largo de varios puntos temporales y parámetros.

La Figura 11 ilustra el nivel proyectado de concentración de suero I2S en un sujeto humano después de la administración de TI a 1, 10, 30 y 100 mg usando un modelo humano.

La Figura 12 ilustra el nivel proyectado de concentración de suero I2S en un sujeto humano después de la administración de TI a 1, 10, 30 y 100 mg utilizando un modelo alométrico.

La Figura 13 muestra los perfiles de la concentración I2S sérica media de los pacientes en el primer brazo en la semana 3.

La Figura 14 muestra los perfiles de la concentración de I2S en suero promedio de los pacientes en el primer brazo en la semana 23.

La Figura 15 muestra los perfiles de la concentración de I2S en suero de los pacientes en la semana 3, la semana 23 y el mes 19.

La Figura 16 describe los niveles de líquido cefalorraquídeo de GAG en pacientes tratados con 10 mg de I2S recombinante de IT durante un período de 36 meses.

La Figura 17 describe los niveles de líquido cefalorraquídeo de GAG en pacientes tratados con 30 mg de I2S recombinante de IT durante un período de 15 meses.

La Figura 18 muestra los niveles de líquido cefalorraquídeo de GAG en pacientes de ensayos clínicos tratados con 1, 10 o 30 mg de I2S durante 27 semanas, en comparación con el control.

La Figura 19 ilustra una puntuación estándar de independencia estándar amplia de paciente individual ejemplar SIB-R por edad cronológica.

La Figura 20 ilustra instrumentos ejemplares adicionales para evaluar el rendimiento cognitivo.

La Figura 21 ilustra las subpruebas del DAS-II.

DEFINICIONES

[0029] A fin de que la presente invención se entienda más fácilmente, ciertos términos se definen primero a continuación. Las definiciones adicionales para los siguientes términos y otros términos se establecen a lo largo de la especificación.

[0030] *Aproximadamente o alrededor de:* Como se usa aquí, el término "aproximadamente" o "alrededor de", tal como se aplica a uno o más valores de interés, se refiere a un valor que es similar a un valor de referencia establecido. En ciertas realizaciones, el término "aproximadamente" o "alrededor de" se refiere a un rango de valores que se encuentran dentro del 25%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% o menos en cualquier dirección (mayor o menor que) del valor de referencia indicado a menos que se indique lo contrario o sea evidente en el contexto (excepto cuando dicho número supere el 100% de un valor posible).

[0031] *Mejoría:* Como se usa aquí, el término "mejora" quiere decir la prevención, la reducción o la paliación de un estado, o la mejora del estado de un sujeto. La mejora incluye, pero no requiere la recuperación completa o la prevención completa de una enfermedad. En algunas realizaciones, la mejora incluye niveles crecientes de proteína relevante o su actividad que es deficiente en tejidos de enfermedad relevantes.

[0032] *Biológicamente activos:* Como se usa aquí, la frase "biológicamente activo" se refiere a una característica de cualquier agente que tiene actividad en un sistema biológico, y en particular en un organismo. Por ejemplo, un agente que, cuando se administra a un organismo, tiene un efecto biológico en ese organismo, se considera biológicamente activo. En realizaciones particulares, cuando una proteína o polipéptido es biológicamente activo, una porción de esa proteína o polipéptido que comparte al menos una actividad biológica de la proteína o polipéptido se denomina típicamente una porción "biológicamente activa".

[0033] *Agente de carga:* Como se usa aquí, el término "agente de carga" se refiere a un compuesto que añade masa a la mezcla liofilizada y contribuye a la estructura física de la torta liofilizada (por ejemplo, facilita la producción de una torta liofilizada esencialmente uniforme que mantiene una estructura de poro abierto). Los agentes de carga ejemplares incluyen manitol, glicina, cloruro de sodio, hidroxietil almidón, lactosa, sacarosa, trehalosa, polietilenglicol y dextrano.

[0034] *receptor independiente de cationes de manosa-6-fosfato (CI-MPR):* Como se utiliza aquí, el término "receptor manosa-6-fosfato independiente de cationes (CI-MPR)" se refiere a un receptor celular que se une a etiquetas manosa-6-fosfato (M6P) en precursores de hidrolasa ácida en el aparato de Golgi que están destinados al transporte

al lisosoma. Además de la manosa-6-fosfatos, el CI-MPR también se une a otras proteínas, incluido el IGF-II. El CI-MPR también se conoce como "receptor M6P/IGF-II", "receptor CI-MPR/IGF-II", "receptor de IGF-II" o "receptor de IGF2". Estos términos y abreviaturas de los mismos se usan de manera intercambiable en este documento.

5 **[0035] *Terapia inmunosupresora concurrente:*** como se usa en este documento, el término "terapia inmunosupresora concurrente" incluye cualquier terapia inmunosupresora usada como tratamiento previo, preconditionamiento o en paralelo a un método de tratamiento.

10 **[0036] *Diluyente:*** Como se usa aquí, el término "diluyente" se refiere a un vehículo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, sustancia útil segura y no tóxica para la administración a un ser humano) para la preparación de una formulación reconstituida diluyente. Los diluyentes ejemplares incluyen agua estéril, agua bacteriostática para inyección (BWFI), una solución tamponada de pH (por ejemplo, solución salina tamponada con fosfato), solución salina estéril, solución de Ringer o solución de dextrosa.

15 **[0037] *Forma de dosificación:*** Como se utiliza aquí, los términos "forma de dosificación" y "forma de dosificación unitaria" se refiere a una unidad físicamente discreta de una proteína terapéutica para el paciente a tratar. Cada unidad contiene una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado. Se entenderá, sin embargo, que la dosis total de la composición será decidida por el médico a cargo dentro del alcance de un buen juicio médico.

20 **[0038] *Terapia de reemplazo enzimático (ERT):*** como se usa en este documento, el término "terapia de reemplazo enzimático (ERT)" se refiere a cualquier estrategia terapéutica que corrija una deficiencia de enzimas al proporcionar la enzima faltante. En algunas realizaciones, la enzima faltante se proporciona mediante administración intratecal. En algunas realizaciones, la enzima faltante se proporciona mediante infusión en el torrente sanguíneo. Una vez
25 administrada, la enzima es captada por las células y transportada al lisosoma, donde la enzima actúa para eliminar el material que se ha acumulado en los lisosomas debido a la deficiencia de la enzima. Típicamente, para que la terapia de reemplazo de enzimas lisosomales sea efectiva, la enzima terapéutica se administra a los lisosomas en las células apropiadas en los tejidos diana donde se manifiesta el defecto de almacenamiento.

30 **[0039] *Mejorar, aumentar o reducir:*** Como se usa en el presente documento, los términos "mejorar", "aumentar" o "reducir", o equivalentes gramaticales, indican valores relativos a una medición de línea de base, tales como una medición en el mismo individuo antes del inicio del tratamiento descrito en el presente documento, o una medición en un individuo de control (o individuos de control múltiple) en ausencia del tratamiento descrito en el presente documento. Un "individuo de control" es un individuo que padece la misma forma de enfermedad de almacenamiento
35 lisosomal que el individuo que está siendo tratado, que tiene aproximadamente la misma edad que el individuo que está siendo tratado (para garantizar que las etapas de la enfermedad en el individuo tratado y el (los) individuos(s) de control son comparables).

40 **[0040] *Individuo, sujeto, paciente:*** como se usa en este documento, los términos "sujeto", "individuo" o "paciente" se refieren a un sujeto humano o no mamífero humano. El individuo (también conocido como "paciente" o "sujeto") que está siendo tratado es un individuo (feto, infante, niño, adolescente o adulto) que padece una enfermedad.

45 **[0041] *Administración intratecal:*** Como se usa aquí, el término "administración intratecal" o "inyección intratecal" se refiere a una inyección en el canal espinal (espacio intratecal alrededor de la médula espinal). Se pueden usar varias técnicas que incluyen, sin limitación, la inyección cerebroventricular lateral a través de una perforación o una punción cisternal o lumbar o similares. En algunas realizaciones, "administración intratecal" o "entrega intratecal" de acuerdo con la presente invención se refiere a la administración o entrega de TI a través del área o región lumbar, Es decir, administración o entrega de TI lumbar. Como se usa en este documento, el término "región lumbar" o "área lumbar" se refiere al área entre las regiones L4-L5, L3-L4, L2-L3 y/o L2-S1 de la columna vertebral.

50 **[0042] *Polipéptido:*** Como se usa en el presente documento, un "polipéptido", en general, es una cadena de al menos dos aminoácidos unidos entre sí por un enlace peptídico. En algunas realizaciones, un polipéptido puede incluir al menos 3-5 aminoácidos, cada uno de los cuales está unido a otros por medio de al menos un enlace peptídico. Los expertos en la materia apreciarán que los polipéptidos a veces incluyen aminoácidos "no naturales" u
55 otras entidades que, sin embargo, son capaces de integrarse en una cadena polipeptídica, opcionalmente.

[0043] *Enzima de sustitución:* Según se usa aquí, el término "enzima de sustitución" se refiere a cualquier enzima que puede actuar para reemplazar al menos en parte la enzima deficiente o que falta en una enfermedad a tratar. En algunas realizaciones, el término "enzima de reemplazo" se refiere a cualquier enzima que puede actuar para reemplazar al menos en parte la enzima lisosomal deficiente o faltante en una enfermedad de almacenamiento lisosomal a tratar. En algunas realizaciones, una enzima de reemplazo es capaz de reducir los materiales acumulados en los lisosomas de mamíferos o que pueden rescatar o mejorar uno o más síntomas de la enfermedad de almacenamiento lisosomal. Las enzimas de reemplazo adecuadas para la invención incluyen enzimas lisosómicas modificadas o de tipo silvestre y pueden producirse usando métodos recombinantes y sintéticos o purificados de fuentes naturales. Una enzima de reemplazo puede ser una enzima recombinante, sintética, activada por genes o natural.

[0044] Soluble: Como se usa aquí, el término "soluble" se refiere a la capacidad de un agente terapéutico para formar una solución homogénea. En algunas realizaciones, la solubilidad del agente terapéutico en la solución en la que se administra y por la cual se transporta al sitio de acción diana (por ejemplo, las células y los tejidos del cerebro) es suficiente para permitir el suministro de un agente terapéutico. Cantidad efectiva del agente terapéutico al sitio de acción diana. Varios factores pueden impactar la solubilidad de los agentes terapéuticos. Por ejemplo, los factores relevantes que pueden afectar la solubilidad de la proteína incluyen la fuerza iónica, la secuencia de aminoácidos y la presencia de otros agentes o sales de co-solubilización (por ejemplo, sales de calcio). En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas se formulan de manera que las sales de calcio se excluyen de tales composiciones. En algunas realizaciones, los agentes terapéuticos de acuerdo con la presente invención son solubles en su correspondiente composición farmacéutica. Se apreciará que, si bien las soluciones isotónicas son generalmente preferidas para los medicamentos administrados por vía parenteral, el uso de soluciones isotónicas puede limitar la solubilidad adecuada para algunos agentes terapéuticos y, en particular, algunas proteínas y/o enzimas. Las soluciones ligeramente hipertónicas (por ejemplo, hasta 175 mM de cloruro de sodio en 5 mM de fosfato de sodio a pH 7,0) y las soluciones que contienen azúcar (por ejemplo, hasta el 2% de sacarosa en 5 mM de fosfato de sodio a pH 7,0) han demostrado ser bien toleradas en los monos. Por ejemplo, la composición de formulación de bolo del SNC aprobada más común es la solución salina (150 mM NaCl en agua).

[0045] Estabilidad: Como se usa en el presente documento, el término "estable" se refiere a la capacidad del agente terapéutico (por ejemplo, una enzima recombinante) para mantener su eficacia terapéutica (por ejemplo, toda o la mayoría de su actividad biológica y/o integridad fisicoquímica pretendidas) durante períodos prolongados de tiempo. La estabilidad de un agente terapéutico y la capacidad de la composición farmacéutica para mantener la estabilidad de dicho agente terapéutico pueden evaluarse durante largos períodos de tiempo (por ejemplo, durante al menos 1, 3, 6, 12, 18, 24, 30, 36 meses o más). En general, las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se han formulado de modo que sean capaces de estabilizar, o alternativamente retardar o prevenir la degradación, de uno o más agentes terapéuticos formulados con las mismas (por ejemplo, proteínas recombinantes). En el contexto de una formulación, una formulación estable es aquella en la que el agente terapéutico conserva esencialmente su integridad física y/o química y su actividad biológica durante el almacenamiento y durante los procesos (como la congelación/descongelación, la mezcla mecánica y la liofilización). Para la estabilidad de la proteína, se puede medir mediante la formación de agregados de alto peso molecular (HMW), pérdida de actividad enzimática, generación de fragmentos de péptidos y desplazamiento de los perfiles de carga.

[0046] Asunto: Como se usa aquí, el término "sujeto" se refiere a cualquier mamífero, incluyendo seres humanos. En ciertas realizaciones de la presente invención, el sujeto es un adulto, un adolescente o un niño. La presente invención también contempla la administración de las composiciones farmacéuticas y/o el rendimiento de los métodos de tratamiento en el útero.

[0047] Homología sustancial: la frase "homología sustancial" se usa en el presente documento para referirse a una comparación entre secuencias de aminoácidos o de ácidos nucleicos. Como apreciarán los expertos en la técnica, generalmente se considera que dos secuencias son "sustancialmente homólogas" si contienen residuos homólogos en las posiciones correspondientes. Los residuos homólogos pueden ser residuos idénticos. Alternativamente, los residuos homólogos pueden ser residuos no idénticos que tendrán características estructurales y/o funcionales apropiadamente similares. Por ejemplo, como saben bien los expertos en la técnica, ciertos aminoácidos se clasifican típicamente como aminoácidos "hidrófobos" o "hidrófilos", y/o tienen cadenas laterales "polares" o "no polares". La sustitución de un aminoácido por otro del mismo tipo a menudo puede considerarse una sustitución "homóloga".

[0048] Como es bien conocido en esta técnica, secuencias de aminoácidos o de ácido nucleico se pueden comparar usando cualquiera de una variedad de algoritmos, incluidos los disponibles en programas informáticos comerciales como BLASTN para secuencias de nucleótidos y BLASTP, gappedBLAST, y PSI-BLAST para secuencias de aminoácidos. Ejemplares de programa tales como Alschul, et al., Basic local alignment search tool, J. Mol. Biol., 215 (3): 403-410, 1990; Altschul, et al., Methods in Enzymology; Altschul, et al., "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", Nucleic Acids Res. 25:3389-3402, 1997; Baxevanis, et al., Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins, Wiley, 1998; and Misener, et al., (eds.), Bioinformatics Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology, Vol. 132), Humana Press, 1999. Además de identificar secuencias homólogas, los programas mencionados anteriormente típicamente proporcionan una indicación del grado de homología. En algunas realizaciones, dos secuencias se consideran sustancialmente homólogas si al menos 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de sus residuos correspondientes son homólogos en un tramo de residuos relevante. En algunas realizaciones, el estiramiento relevante es una secuencia completa. En algunas realizaciones, el estiramiento relevante es al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500 o más residuos.

[0049] Identidad sustancial: La frase "identidad sustancial" se utiliza aquí para referirse a una comparación entre secuencias de aminoácidos o de ácidos nucleicos. Como apreciarán los expertos en la técnica, generalmente se considera que dos secuencias son "sustancialmente idénticas" si contienen residuos idénticos en las posiciones

correspondientes. Como es bien sabido en esta técnica, las secuencias de aminoácidos o ácidos nucleicos pueden compararse utilizando cualquiera de una variedad de algoritmos, incluidos los disponibles en programas informáticos comerciales tales como BLASTN para secuencias de nucleótidos y BLASTP, BLAST con espacios y PSI-BLAST para secuencias de aminoácidos. Ejemplos de tales programas se describen en Altschul, et al., Basic local alignment search tool, J. Mol. Biol., 215(3): 403-410, 1990; Altschul, et al., Methods in Enzymology; Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402, 1997; Baxevanis et al., Bioinformatics : A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins, Wiley, 1998; and Misener, et al., (eds.), Bioinformatics Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology, Vol. 132), Humana Press, 1999. Además de identificar secuencias idénticas, los programas mencionados anteriormente típicamente proporcionan una indicación del grado de identidad. En algunas realizaciones, dos secuencias se consideran sustancialmente idénticas si al menos 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de sus residuos correspondientes son idénticos sobre un tramo de residuos relevante. En algunas realizaciones, el estiramiento relevante es una secuencia completa. En algunas realizaciones, el estiramiento relevante es al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500 o más residuos.

[0050] Tejidos diana: Como se usa aquí, el término "tejidos diana" se refiere a cualquier tejido que es afectado por la enfermedad de almacenamiento lisosomal que se ha de tratar o cualquier tejido en el que se expresa normalmente la enzima lisosomal deficiente. En algunas realizaciones, los tejidos diana incluyen aquellos tejidos en los que existe una cantidad detectable o anormalmente alta de sustrato enzimático, por ejemplo, almacenado en los lisosomas celulares del tejido, en pacientes que padecen o son susceptibles a la enfermedad de almacenamiento lisosomal. En algunas realizaciones, los tejidos diana incluyen aquellos tejidos que muestran patología, síntoma o característica asociada con la enfermedad. En algunas realizaciones, los tejidos diana incluyen aquellos tejidos en los que la enzima liso-somal deficiente se expresa normalmente a un nivel elevado. Como se usa en el presente documento, un tejido diana puede ser un tejido diana cerebral, un tejido diana de la médula espinal y/o un tejido diana periférico. Los tejidos diana ejemplares se describen en detalle a continuación.

[0051] Resto terapéutico: como se usa en el presente documento, el término "resto terapéutico" se refiere a una porción de una molécula que produce el efecto terapéutico de la molécula. En algunas realizaciones, un resto terapéutico es un polipéptido que tiene actividad terapéutica.

[0052] Cantidad terapéuticamente eficaz: Como se usa aquí, el término "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de una proteína terapéutica (por ejemplo, enzima de sustitución) que confiere un efecto terapéutico sobre el sujeto tratado, a una razón beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico. El efecto terapéutico puede ser objetivo (es decir, medible mediante alguna prueba o marcador) o subjetivo (es decir, el sujeto da una indicación de o siente un efecto). En particular, la "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de una proteína o composición terapéutica eficaz para tratar, mejorar o prevenir una enfermedad o afección deseada, o para exhibir un efecto terapéutico o preventivo detectable, tal como mediante la mejora de los síntomas. asociado con la enfermedad, previniendo o retrasando el inicio de la enfermedad, y/o también disminuyendo la severidad o frecuencia de los síntomas de la enfermedad. Una cantidad terapéuticamente eficaz se administra comúnmente en un régimen de dosificación que puede comprender múltiples dosis unitarias. Para cualquier proteína terapéutica particular, una cantidad terapéuticamente eficaz (y/o una dosis unitaria apropiada dentro de un régimen de dosificación eficaz) puede variar, por ejemplo, dependiendo de la vía de administración, en combinación con otros agentes farmacéuticos. Además, la cantidad terapéuticamente efectiva específica (y/o la dosis unitaria) para cualquier paciente en particular puede depender de una variedad de factores que incluyen el trastorno que se está tratando y la gravedad del trastorno; la actividad del agente farmacéutico específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del paciente; el tiempo de administración, la vía de administración y/o la tasa de excreción o metabolismo de la proteína de fusión específica empleada; la duración del tratamiento; y factores similares bien conocidos en las artes médicas.

[0053] Tolerable: Como se usa en el presente documento, los términos "tolerable" y "tolerabilidad" se refieren a la capacidad de las composiciones farmacéuticas de la presente invención para no provocar una reacción adversa en el sujeto al que tal composición es administrada, o alternatively, para no provocar una reacción adversa grave en el sujeto a quien se administra dicha composición. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención son bien toleradas por el sujeto al que se administran tales composiciones.

[0054] Tratamiento: Como se utiliza aquí, el término "tratamiento" (también "tratar" o "tratado") se refiere a cualquier administración de una proteína terapéutica (por ejemplo, enzima lisosomal) que parcial o completamente alivia, mejora, inhibe, retrasa la aparición, reduce la gravedad y/o reduce la incidencia de uno o más síntomas o características de una enfermedad, trastorno y/o condición en particular (por ejemplo, el síndrome de Hunters). Dicho tratamiento puede ser de un sujeto que no muestre signos de la enfermedad, trastorno y/o afección relevantes y/o de un sujeto que muestre solo signos tempranos de la enfermedad, trastorno o afección. Alternativa o adicionalmente, tal tratamiento puede ser de un sujeto que exhibe uno o más signos establecidos de la enfermedad, trastorno y/o afección relevantes.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0055] La presente divulgación proporciona, entre otras cosas, una enzima recombinante iduronato-2-sulfatasa (I2S) para uso en un método eficaz para tratar el síndrome de Hunter, en particular, el síndrome de Hunter con el deterioro cognitivo basado en la administración intratecal de enzima iduronato-2-sulfatasa recombinante (I2S). La presente invención proporciona una enzima iduronato-2-sulfatasa (I2S) recombinante para usar en un método para tratar el síndrome de Hunter en un paciente humano mediante la administración por vía intratecal a un sujeto que necesita tratamiento de una enzima iduronato-2-sulfatasa (I2S) recombinante a una dosis terapéuticamente efectiva de 10 mg o 30 mg y un intervalo de administración mensual durante un período de tratamiento suficiente para mejorar, estabilizar o reducir la disminución de una o más funciones cognitivas, adaptativas, motoras y/o ejecutivas en relación con un control (por ejemplo, evaluación de línea de base o medición previa al tratamiento) y/o para disminuir el nivel de glicosaminoglicano (GAG) en el líquido cefalorraquídeo (LCR) en relación con un control (p. ej., evaluación o medición inicial previa al tratamiento). En algunas realizaciones, la administración intratecal se realiza junto con la administración intravenosa.

[0056] Se describen varios aspectos de la invención en detalle en las siguientes secciones. El uso de secciones no pretende limitar la invención. Cada sección puede aplicarse a cualquier aspecto de la invención. En esta aplicación, el uso de "o" significa "y/o" a menos que se indique lo contrario.

Enzima de iduronato-2-sulfatasa recombinante (I2S)

[0057] Tal como se utiliza aquí, el término "enzima de iduronato-2-sulfatasa recombinante (I2S)" abarca cualquier molécula o una porción de una molécula que puede sustituir a la actividad de la enzima de iduronato-2-sulfatasa (I2S) de origen natural o rescatar uno o más fenotipos o síntomas asociados con la deficiencia de I2S. En algunas realizaciones, una enzima I2S recombinante adecuada para la invención es un polipéptido que tiene un extremo N y un extremo C y una secuencia de aminoácidos sustancialmente similar o idéntica a la proteína I2S humana madura. Los términos "proteína" y "enzima" se usan de manera intercambiable en relación con I2S. Una enzima o proteína recombinante también se conoce como enzima o proteína de reemplazo en esta aplicación.

[0058] Típicamente, la proteína I2S humana es producida como una forma precursora. La forma precursora del I2S humano contiene un péptido señal (residuos de aminoácidos 1-25 del precursor de longitud completa), un péptido (residuos de aminoácidos 26-33 del precursor de longitud completa) y una cadena (residuos 34-550) del precursor de longitud completa que puede procesarse adicionalmente en la cadena de 42 kDa (residuos 34-455 del precursor de longitud completa) y la cadena de 14 kDa (residuos 446-550 del precursor de longitud completa). Normalmente, la forma precursora también se denomina precursora de longitud completa o proteína I2S de longitud completa, que contiene 550 aminoácidos. Las secuencias de aminoácidos de la forma madura (SEQ ID NO: 1) que tienen el péptido señal eliminado y el precursor de longitud completa (SEQ ID NO: 2) de una proteína I2S humana de tipo natural o natural típica se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Iduronato-2-sulfatasa humana

Forma madura	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRLPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFA QQAVCAPSRVSEFLTGRRPDTTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSV GKVFHPGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDPGELHANLLCPVD VLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPFLLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKL YPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPPIPVDFORK IRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAFTSDHGWALGEHGEWAKYS NFDVATHVPLIFYVPGRTASLPEAGEKLFYLDPFDSASQLMEPGRQSMDELVEL VSLFPTLAGLAGLQVPPRCVPVPSFHVLCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNP RELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLKDIIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFPNDEFL ANFSDIHAGELYFVDSPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMP (SEQ ID NO: 1)
Precursor de longitud completa	MPPPRGTGRLLWLGLVLSVCVALGSETQANSTTDALNVLLIIVDDLRLPSLGCY GDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSEFLTGRRPDTTRLYDFNSY WRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFHPGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPS EKYENTKTCRGPDPGELHANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS SPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDI RQREDVQALNISVPYGPPIPVDFORKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLA NSTIIAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTASLPEAGEKLF PYLDPFDSASQLMEPGRQSMDELVELVSLFPTLAGLAGLQVPPRCVPVPSFHVLC REGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLKDIIK IMGYSIRTIDYRYTVWVGFPNDEFLANFSDIHAGELYFVDSPLQDHNMYNDSQ GGDLFQLLMP (SEQ ID NO: 2)

[0059] Por lo tanto, en algunas realizaciones, una enzima I2S recombinante adecuada para la presente invención es

la proteína madura I2S humana (SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones, una enzima I2S recombinante adecuada puede ser un homólogo o un análogo de la proteína I2S humana madura. Por ejemplo, un homólogo o un análogo de la proteína I2S humana madura puede ser una proteína I2S humana madura modificada que contiene una o más sustituciones, delecciones y/o inserciones de aminoácidos en comparación con una proteína I2S de tipo natural o natural (por ejemplo, SEQ ID NO: 1), mientras se conserva una actividad sustancial de la proteína I2S. Por lo tanto, en algunas realizaciones, una enzima I2S recombinante adecuada para la presente invención es sustancialmente homóloga a la proteína I2S humana madura (SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones, una enzima I2S recombinante adecuada para la presente invención tiene una secuencia de aminoácidos al menos 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más homólogo a la SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, una enzima I2S recombinante adecuada para la presente invención es sustancialmente idéntica a la proteína I2S humana madura (SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones, una enzima I2S recombinante adecuada para la presente invención tiene una secuencia de aminoácidos al menos 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más idéntica a la SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, una enzima I2S recombinante adecuada para la presente invención contiene un fragmento o una porción de proteína I2S humana madura.

[0060] Alternativamente, un I2S recombinantes enzima adecuada para la presente invención es la proteína I2S de longitud completa. En algunas realizaciones, una enzima I2S recombinante adecuada puede ser un homólogo o un análogo de la proteína I2S humana de longitud completa. Por ejemplo, un homólogo o un análogo de la proteína I2S humana de longitud completa puede ser una proteína I2S humana de longitud completa modificada que contiene una o más sustituciones, delecciones y/o inserciones de aminoácidos en comparación con una proteína de tipo silvestre o proteína I2S natural de longitud completa (por ejemplo, SEQ ID NO: 2), al tiempo que conserva una actividad sustancial de la proteína I2S. Por lo tanto, en algunas realizaciones, una enzima I2S recombinante adecuada para la presente invención es sustancialmente homóloga a la proteína I2S humana de longitud completa (SEQ ID NO: 2). En algunas realizaciones, una enzima I2S recombinante adecuada para la presente invención tiene una secuencia de aminoácidos al menos 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más homólogo a la SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, una enzima I2S recombinante adecuada para la presente invención es sustancialmente idéntica a la SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, una enzima I2S recombinante adecuada para la presente invención tiene una secuencia de aminoácidos al menos 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más idéntico a la SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, una enzima I2S recombinante adecuada para la presente invención contiene un fragmento o una porción de proteína I2S humana de longitud completa. Como se usa en este documento, una proteína I2S de longitud completa contiene típicamente una secuencia de péptido señal.

[0061] Una enzima I2S recombinante adecuado para la presente invención se pueden producir por cualquier medio disponible. Por ejemplo, las enzimas de reemplazo pueden producirse de forma recombinante utilizando un sistema de células huésped diseñado para expresar un ácido nucleico que codifica enzimas de reemplazo. Alternativa o adicionalmente, las enzimas I2S recombinantes pueden producirse activando genes endógenos. Alternativa o adicionalmente, las enzimas I2S recombinantes pueden prepararse parcial o totalmente mediante síntesis química. Alternativa o adicionalmente, las enzimas I2S recombinantes también pueden purificarse a partir de fuentes naturales.

[0062] Cuando las enzimas se producen recombinantemente, puede usarse cualquier sistema de expresión. Para dar unos pocos ejemplos, los sistemas de expresión conocidos incluyen, por ejemplo, células de huevo, baculovirus, plantas, levaduras o mamíferos.

[0063] En algunas realizaciones, las enzimas adecuadas para la presente invención se producen en células de mamífero. Los ejemplos no limitantes de células de mamíferos que pueden usarse de acuerdo con la presente invención incluyen la línea de mieloma de ratón BALB/c (NSO/I, N° ECACC: 85110503); retinoblastos humanos (PER.C6, CruCell, Leiden, Países Bajos); línea CV1 de riñón de mono transformada por SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651); línea de riñón embrionario humano (293 o 293 células subclonadas para el crecimiento en cultivo en suspensión, Graham et al., J. Gen Virol., 36: 59,1977); línea celular de fibrosarcoma humano (por ejemplo, HT1080); células de riñón de hámster bebé (BHK, ATCC CCL 10); células de ovario de hámster chino +/- DHFR (CHO, Urlaub y Chasin, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU, 77: 4216, 1980); células de sertoli de ratón (TM4, Mather, Biol. Reprod., 23: 243-251, 1980); células de riñón de mono (CV1 ATCC CCL 70); Células de riñón de mono verde africano (VERO-76, ATCC CRL-1 587); células de carcinoma cervical humano (HeLa, ATCC CCL 2); células renales caninas (MDCK, ATCC CCL 34); células del hígado de rata búfalo (BRL 3A, ATCC CRL 1442); células pulmonares humanas (W138, ATCC CCL 75); células hepáticas humanas (Hep G2, HB 8065); tumor mamario de ratón (MMT 060562, ATCC CCL51); células TRI (Mather et al., Annals NY Acad. Sci., 383: 44-68, 1982); MRC 5 células; células FS4; y una línea de hepatoma humano (Hep G2).

[0064] En algunas realizaciones, las enzimas I2S recombinantes adecuadas para la presente invención se producen a partir de células humanas. En algunas realizaciones, las enzimas I2S recombinantes adecuadas para la presente invención se producen a partir de células CHO.

[0065] En algunas realizaciones, las enzimas I2S recombinantes adecuadas para la presente invención contienen un resto que se une a un receptor en la superficie de las células del cerebro para facilitar la captación celular y/u orientación lisosomal. Por ejemplo, dicho receptor puede ser el receptor de manosa-6-fosfato (CI-MPR) independiente de catión que se une a los residuos de manosa-6-fosfato (M6P). Además, el CI-MPR también se une a otras proteínas, incluido el IGF-II. En algunas realizaciones, una enzima I2S recombinante adecuada para la presente invención contiene residuos M6P en la superficie de la proteína. En algunas realizaciones, una enzima I2S recombinante adecuada para la presente invención puede contener oligosacáridos bis-fosforilados que tienen mayor afinidad de unión al CI-MPR. En algunas realizaciones, una enzima I2S recombinante adecuada contiene hasta aproximadamente un promedio de aproximadamente al menos 20% de oligosacáridos bis-fosforilados por enzima. En otras realizaciones, una enzima adecuada puede contener aproximadamente 10%, 15%, 18%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60% de oligosacáridos bisfosforilados por enzima. Mientras que tales oligosacáridos bis-fosforilados pueden estar presentes de forma natural en la enzima, debe observarse que las enzimas pueden modificarse para poseer tales oligosacáridos. Por ejemplo, ciertas enzimas I2S recombinantes adecuadas pueden ser modificadas por ciertas enzimas que son capaces de catalizar la transferencia de N-acetilglucosamina-L-fosfato de UDP-GlcNAc a la posición 6' de las cepas unidas a α 2,2 en enzimas lisosomales. Los métodos y composiciones para producir y usar dichas enzimas se describen, por ejemplo, en Canfield et al. en la patente de EE.UU. N° 6.537.785, y la patente de EE.UU. N° 6.534.300.

[0066] En algunas realizaciones, las enzimas I2S recombinantes para uso en la presente invención pueden conjugarse o fusionarse a un resto lisosómico que es capaz de unirse a un receptor en la superficie de las células cerebrales. Un resto de direccionamiento lisosomal adecuado puede ser IGF-I, IGF-II, RAP, p97, y variantes, homólogos o fragmentos de los mismos (por ejemplo, incluyendo aquellos péptidos que tienen una secuencia al menos 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, o 95% idéntico a una secuencia peptídica humana de tipo silvestre IGF-I, IGF-II, RAP, p97).

[0067] En algunas realizaciones, las enzimas I2S recombinantes adecuadas para la presente invención no se han modificado para mejorar el suministro o transporte de tales agentes a través de la BBB y en el SNC.

Administración intratecal

[0068] En algunas realizaciones, una enzima I2S recombinante se entrega en el SNC mediante la administración en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de un sujeto en necesidad de tratamiento. En algunas realizaciones, la administración intratecal se usa para administrar una enzima de reemplazo deseada en el CSF. Como se usa en este documento, la administración intratecal (también denominada inyección intratecal) se refiere a una inyección en el canal espinal (espacio intratecal que rodea la médula espinal). Se pueden usar varias técnicas que incluyen, sin limitación, la inyección cerebroventricular lateral a través de una perforación o una punción cisternal o lumbar o similares. Los métodos ejemplares se describen en la solicitud internacional WO2011/163648, titulada "CNS Delivery of Therapeutic Agents".

[0069] Según la presente invención, una enzima I2S recombinante se puede inyectar en cualquier región que rodea el canal espinal. En algunas realizaciones, se inyecta una enzima en el área lumbar o la cisterna magna o intraventricular en un espacio ventricular cerebral. Como se usa en este documento, el término "región lumbar" o "área lumbar" se refiere al área entre las vértebras lumbares tercera y cuarta (parte inferior de la espalda) y, más inclusivamente, la región L2-S1 de la columna vertebral. Por lo general, la inyección intratecal a través de la región lumbar o área de madera también se conoce como "administración de TI lumbar" o "administración de TI lumbar". El término "cisterna magna" se refiere al espacio alrededor y debajo del cerebelo a través de la abertura entre el cráneo y la parte superior de la columna vertebral. Por lo general, la inyección intratecal a través de la cisterna magna también se conoce como "entrega de cisterna magna". El término "ventrículo cerebral" se refiere a las cavidades en el cerebro que son continuas con el canal central de la médula espinal. Típicamente, las inyecciones a través de las cavidades del ventrículo cerebral se conocen como administración cerebral intraventricular (ICV).

[0070] En algunas realizaciones, "administración intratecal" o "entrega intratecal", de acuerdo con la presente invención se refiere a la administración o entrega lumbar de TI, por ejemplo, la entrega entre las vértebras lumbares tercera y cuarta (espalda baja) y, más inclusivamente, la región L2-S1 de la columna vertebral. Se contempla que la administración o el suministro de TI lumbar distingue el suministro de cisterna magna en que la administración o el suministro de TI lumbar de acuerdo con nuestra invención proporciona un suministro mejor y más efectivo al canal espinal distal, mientras que el suministro de cisterna magna, entre otras cosas, típicamente no se administra bien al canal espinal distal. En algunas realizaciones, la administración intratecal se realiza en las regiones L5-L6, L4-L5, L3-L4, L2-L3 y/o L2-S1 de la columna vertebral.

Formulaciones para la administración de TI

[0071] En algunas realizaciones, una cantidad deseada de enzima I2S recombinante se entrega en una formulación adecuada para la administración intratecal. Las formulaciones particularmente útiles son capaces de solubilizar altas concentraciones de enzima I2S recombinante y se caracterizan además por una estabilidad mejorada y una mejor tolerabilidad cuando se administran por vía intratecal al SNC de un sujeto que lo necesita. Como se usa en el

presente documento, el término "soluble" en lo que se refiere a una enzima I2S recombinante se refiere a la capacidad de la enzima I2S recombinante para formar una solución homogénea.

[0072] Por lo tanto, las formulaciones adecuadas para la administración intratecal pueden contener una enzima I2S recombinante a diversas concentraciones. En algunas realizaciones, las formulaciones adecuadas pueden contener una enzima I2S recombinante en una concentración de hasta aproximadamente 300 mg/ml (por ejemplo, hasta aproximadamente 250 mg/ml, hasta aproximadamente 200 mg/ml, hasta aproximadamente 150 mg/ml, hasta aproximadamente 100 mg/ml, hasta aproximadamente 90 mg/ml, hasta aproximadamente 80 mg/ml, hasta aproximadamente 70 mg/ml, hasta aproximadamente 60 mg/ml, hasta aproximadamente 50 mg/ml, hasta aproximadamente 40 mg/ml, hasta aproximadamente 30 mg/ml, hasta aproximadamente 25 mg/ml, hasta aproximadamente 20 mg/ml, hasta aproximadamente 10 mg/ml). En algunas realizaciones, las formulaciones adecuadas pueden contener una enzima I2S recombinante a una concentración que oscila entre aproximadamente 0-300 mg/ml (por ejemplo, aproximadamente 1-250 mg/ml, aproximadamente 1-200 mg/ml, aproximadamente 1-150 mg/ml), aproximadamente 1-100 mg/ml, aproximadamente 10-100 mg/ml, aproximadamente 10-80 mg/ml, aproximadamente 10-70 mg/ml, aproximadamente 1-60 mg/ml, aproximadamente 1-50 mg/ml, aproximadamente 10-150 mg/ml, aproximadamente 1-30 mg/ml). En algunas realizaciones, las formulaciones adecuadas para administración intratecal pueden contener una enzima I2S recombinante en una concentración de aproximadamente 1 mg/ml, 3 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml, 20 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml, 75 mg/ml, 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml, 250 mg/ml o 300 mg/ml.

[0073] En algunas realizaciones, se utilizan soluciones isotónicas. En algunas realizaciones, soluciones ligeramente hipertónicas (por ejemplo, hasta 300 mM (por ejemplo, hasta 250 mM, 200 mM, 175 mM, 150 mM, 125 mM) en fosfato de sodio 5 mM a pH 7,0) y soluciones que contienen azúcar (por ejemplo, hasta un 3% (p. ej., hasta un 2,4%, 2,0%, 1,5%, 1,0%) de sacarosa en fosfato de sodio 5 mM a pH 7,0) se ha demostrado que es bien tolerado en monos. En algunas realizaciones, una composición de formulación de bolo del SNC adecuada es solución salina (por ejemplo, NaCl 150 mM en agua).

[0074] Como ejemplos no limitantes, la Tabla 2 abajo enumera pH y excipientes ejemplares adecuados para el mantenimiento de la solubilidad y estabilidad de un I2S recombinante en una formulación para la administración intratecal.

Tabla 2. Ejemplares de pH y excipientes.

Parámetro	Intervalo/tipo típico	Razón fundamental
pH	4 a 8,0	Para estabilidad
Tipo de tampón	acetato, succinato, citrato, histidina, fosfato o Tris	Algunas veces también para la solubilidad
Concentración de tampón	5-50 mM	Para mantener el pH óptimo
Tonificante	NaCl, azúcares, manitol	También puede afectar la estabilidad
Surfactante	Polisorbato 20, polisorbato 80	Para mantener el pH
Otro	Aminoácidos (por ejemplo, arginina) de decenas a cientos de mM	También puede estabilizar o agregar fuerza iónica
		Para producir soluciones isoosmóticas o isotónicas
		Para estabilizar contra las interfaces y el corte
		Para una mayor solubilidad o estabilidad

[0075] En algunas realizaciones, las formulaciones adecuadas para la presente invención contienen una cantidad de tampón suficiente para mantener el pH óptimo de dicha formulación entre aproximadamente 4,0-8,0, entre aproximadamente 5,0-7,5, entre aproximadamente 5,5-7,0, entre aproximadamente 6,0-7,0 y entre aproximadamente 6,0-7,5. Los tampones adecuados incluyen, por ejemplo, acetato, succinato, citrato, fosfato, otros ácidos orgánicos y tris(hidroximetil)aminometano ("Tris"). Las concentraciones de tampón adecuadas pueden ser de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM, de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM, o de aproximadamente 3 mM a aproximadamente 20 mM, dependiendo, por ejemplo, del tampón y la isotonicidad deseada de la formulación. En algunas realizaciones, un agente tampón adecuado está presente a una concentración de aproximadamente 1 mM, 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM, 25 mM, 30 mM, 35 mM, 40 mM, 45 mM, 50 mM, 55 mM, 60 mM, 65 mM, 70 mM, 75 mM, 80 mM, 85 mM, 90 mM, 95 mM o 100 mM. En realizaciones particulares, una formulación adecuada para la presente invención contiene menos de aproximadamente 50 mM (por ejemplo, menos de aproximadamente 45 mM, 40 mM, 35 mM, 30 mM, 25 mM, 20 mM, 15 mM, 10 mM o 5 mM) de fosfato (por ejemplo, fosfato de sodio).

[0076] En algunas realizaciones, las formulaciones contienen un agente de isotonicidad para mantener las formulaciones isotónicas. Tal como se usa en relación con la administración de TI, por "isotónico" se entiende que la formulación de interés tiene esencialmente la misma osmolaridad que el CSF humano. Las formulaciones isotónicas

generalmente tendrán una osmolaridad de aproximadamente 240 mOsm/kg a aproximadamente 350 mOsm/kg. La isotonicidad se puede medir utilizando, por ejemplo, osmómetros de presión de vapor o de punto de congelación. Los agentes de isotonicidad ejemplares incluyen, pero no se limitan a, glicina, sorbitol, manitol, cloruro de sodio y arginina. En algunas realizaciones, los agentes isotónicos adecuados pueden estar presentes en formulaciones a una concentración de aproximadamente 0,01 - 5% (por ejemplo, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,75, 1,0, 1,25, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 4,0 o 5,0%) en peso.

[0077] En algunas realizaciones, las formulaciones pueden contener un agente estabilizante para proteger la proteína. Típicamente, un agente estabilizante adecuado es un azúcar no reductor tal como sacarosa, rafinosa, trehalosa o aminoácidos tales como glicina, arginina y metionina. La cantidad de agente estabilizante en una formulación es generalmente tal que la formulación será isotónica. Sin embargo, las formulaciones hipertónicas también pueden ser adecuadas. Además, la cantidad de agente estabilizante no debe ser demasiado baja, de modo que se produzca una cantidad inaceptable de degradación/agregación del agente terapéutico. Las concentraciones ejemplares de agentes estabilizantes en la formulación pueden variar de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 400 mM (por ejemplo, de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 300 mM y de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 100 mM), o alternativamente, de 0,1% a 15% (por ejemplo, del 1% al 10%, del 5% al 15%, del 5% al 10% en peso. En algunas realizaciones, la proporción de la cantidad de masa del agente estabilizante y el agente terapéutico es aproximadamente 1:1. En otras realizaciones, la relación de la cantidad de masa del agente estabilizante y el agente terapéutico puede ser aproximadamente 0,1:1, 0,2:1, 0,25:1, 0,4:1, 0,5:1, 1:1, 2:1, 2,6:1, 3:1, 4:1, 5:1, 10:1, o 20:1. En algunas realizaciones, adecuado para la liofilización, el agente estabilizante también es un lioprotector.

[0078] En algunas realizaciones, es deseable añadir un tensioactivo para formulaciones. Los tensioactivos ejemplares incluyen tensioactivos no iónicos tales como polisorbatos (por ejemplo, polisorbatos 20 u 80); poloxámeros (por ejemplo, poloxámero 188); Tritón; dodecil sulfato de sodio (SDS); laurel sulfato de sodio; octilglicósido de sodio; lauril, miristil, linoleil o estearil sulfobetaina; lauril, miristil, linoleil o estearil-sarcosina; linoleil, miristil o cetil-betaina; lauroamidopropil-, cocamidopropil-, linolea-midopropil-, miristamidopropil-, palmidopropil- o isostearamidopropil-betaina (por ejemplo, lauroamidopropil); miristarnidopropil, palmidopropil, o isoestirohidropil-dimetilamina; metil cocoylo de sodio, o metil ofeitaurato disódico; y la serie MONAQUAT™ (Mona Industries, Inc., Paterson, NJ), polietilglicol, polipropilglicol y copolímeros de etileno y propilenglicol (por ejemplo, Pluronic, PF68, etc.). Típicamente, la cantidad de surfactante agregado es tal que reduce la agregación de la proteína y minimiza la formación de partículas o efervescencias. Por ejemplo, un surfactante puede estar presente en una formulación a una concentración de aproximadamente 0,001 - 0,5% (por ejemplo, aproximadamente 0,001 - 0,04%, aproximadamente 0,001 - 0,03%, aproximadamente 0,001 - 0,02%, aproximadamente 0,001 - 0,01%, aproximadamente 0,001 - 0,008%, aproximadamente 0,001 - 0,006%, aproximadamente 0,001 - 0,004%, aproximadamente 0,005 - 0,05%, o 0,005 - 0,01%). En particular, un surfactante puede estar presente en una formulación a una concentración de aproximadamente 0,001%, 0,002%, 0,003%, 0,004%, 0,005%, 0,006%, 0,007%, 0,008%, 0,009%, 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, o 0,5%, etc.

[0079] En algunas realizaciones, las formulaciones adecuadas pueden incluir además uno o más agentes de carga, en particular, para formulaciones liofilizadas. Un "agente de carga" es un compuesto que agrega masa a la mezcla liofilizada y contribuye a la estructura física de la torta liofilizada. Por ejemplo, un agente de carga puede mejorar la apariencia de la torta liofilizada (por ejemplo, una torta liofilizada esencialmente uniforme). Los agentes de carga adecuados incluyen, pero no se limitan a, cloruro de sodio, lactosa, manitol, glicina, sacarosa, trehalosa, almidón de hidroxietil. Las concentraciones ejemplares de agentes de carga son de aproximadamente 1% a aproximadamente 10% (por ejemplo, 1,0%, 1,5%, 2,0%, 2,5%, 3,0%, 3,5%, 4,0%, 4,5%, 5,0%, 5,5%, 6,0%, 6,5%, 7,0%, 7,5%, 8,0%, 8,5%, 9,0%, 9,5% y 10,0%).

[0080] Las formulaciones adecuadas para la presente invención pueden evaluarse basándose en el análisis de la calidad del producto, el tiempo de reconstitución (si está liofilizado), la calidad de la reconstitución (si está liofilizada), el alto peso molecular, la humedad y la temperatura de transición vítrea. Típicamente, la calidad de la proteína y el análisis del producto incluyen el análisis de la tasa de degradación del producto utilizando métodos que incluyen, entre otros, HPLC de exclusión de tamaño (SE-HPLC), HPLC de intercambio catiónico (CEX-HPLC), difracción de rayos X (XRD), calorimetría diferencial de barrido modulada (mDSC), HPLC de fase inversa (RP-HPLC), dispersión de luz de múltiples ángulos (MALS), fluorescencia, absorción ultravioleta, nefelometría, electroforesis capilar (CE), SDS-PAGE, y sus combinaciones. En algunas realizaciones, la evaluación del producto de acuerdo con la presente invención puede incluir una etapa de evaluar el aspecto (ya sea el aspecto líquido o de la torta).

[0081] En general, las formulaciones (liofilizadas o acuosas) se pueden almacenar durante períodos prolongados de tiempo a temperatura ambiente. La temperatura de almacenamiento puede oscilar típicamente entre 0°C y 45°C (por ejemplo, 4°C, 20°C, 25°C, 45°C, etc.). Las formulaciones se pueden almacenar por un período de meses a un período de años. El tiempo de almacenamiento generalmente será de 24 meses, 12 meses, 6 meses, 4,5 meses, 3 meses, 2 meses o 1 mes. Las formulaciones se pueden almacenar directamente en el contenedor utilizado para la administración, eliminando los pasos de transferencia.

[0082] Las formulaciones pueden almacenarse directamente en el recipiente de liofilización (si está liofilizado), que

también puede funcionar como el recipiente de reconstitución, eliminando los pasos de transferencia. Alternativamente, las formulaciones de productos liofilizados se pueden medir en incrementos más pequeños para el almacenamiento. En general, el almacenamiento debe evitar las circunstancias que conducen a la degradación de las proteínas, que incluyen, entre otras, la exposición a la luz solar, la radiación UV, otras formas de radiación electromagnética, el calor o el frío excesivos, el choque térmico rápido y el choque mecánico.

[0083] En algunas realizaciones, las formulaciones adecuadas para la presente invención están en una forma líquida o acuosa. En algunas realizaciones, las formulaciones para la presente invención están liofilizadas. Dichas formulaciones liofilizadas pueden reconstituirse añadiendo uno o más diluyentes a las mismas antes de la administración a un sujeto. Los diluyentes adecuados incluyen, pero no se limitan a, agua estéril, agua bacteriostática para inyección y solución salina estéril. Preferiblemente, tras la reconstitución, el agente terapéutico contenido en el mismo es estable, soluble y demuestra tolerabilidad tras la administración a un sujeto.

[0084] Las formulaciones adecuadas se caracterizan por su tolerabilidad. Como se usa en el presente documento, los términos "tolerable" y "tolerabilidad" se refieren a la capacidad de una formulación para no provocar una reacción adversa, en particular, para no provocar una reacción adversa grave en el sujeto al que se administra dicha formulación. En algunas realizaciones, una formulación particularmente útil para la presente invención es bien tolerada por el sujeto al que se administra dicha formulación.

[0085] Formulaciones ejemplares adicionales adecuadas para la administración intratecal de una enzima I2S recombinante se describen en la Solicitud Internacional WO WO2011/163649, titulada "METHODS AND COMPOSITIONS FOR CNS DELIVERY OF IDURONATE-2-SULFATASE".

Regimen de dosificación

[0086] Típicamente, una cantidad terapéuticamente eficaz de un I2S recombinante se administra en un régimen de dosificación que puede comprender múltiples dosis unitarias. Un régimen de dosificación adecuado para cualquier paciente en particular puede depender de una variedad de factores que incluyen el trastorno que se está tratando y la gravedad del trastorno; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del paciente; el tiempo de administración, y/o la tasa de excreción o metabolismo; la duración del tratamiento; y como factores bien conocidos en las artes médicas.

[0087] La dosis unitaria usada en un régimen de dosificación también se conoce como una dosis terapéuticamente eficaz. Una dosis terapéuticamente eficaz se puede definir de varias maneras. Por ejemplo, una dosis terapéuticamente eficaz de acuerdo con la invención se define por la cantidad total de enzima I2S recombinante administrada en cada momento. Una dosis terapéuticamente eficaz de acuerdo con la invención es de 10 mg o 30 mg por dosis. En realizaciones particulares, una dosis terapéuticamente eficaz es de 10 mg por dosis. En realizaciones particulares, una dosis terapéuticamente eficaz es de 30 mg por dosis.

[0088] Una dosis terapéuticamente eficaz puede variar de aproximadamente 0,005 mg/peso del cerebro kg a 500 mg/kg peso del cerebro, por ejemplo, de aproximadamente 0,005 mg/peso del cerebro kg a 400 mg/kg peso del cerebro, de aproximadamente 0,005 mg/kg cerebro peso a 300 mg/kg de peso cerebral, de aproximadamente 0,005 mg/kg de peso cerebral a 200 mg/kg de peso cerebral, de aproximadamente 0,005 mg/kg de peso cerebral a 100 mg/kg de peso cerebral, de aproximadamente 0,005 mg/kg de peso cerebral a 90 mg/kg de peso cerebral, desde aproximadamente 0,005 mg/kg de peso cerebral hasta 80 mg/kg de peso cerebral, desde aproximadamente 0,005 mg/kg de peso cerebral hasta 70 mg/kg de peso cerebral, desde aproximadamente 0,005 mg/kg de peso cerebral hasta 60 mg/kg de peso cerebral, desde aproximadamente 0,005 mg/kg de peso cerebral hasta 50 mg/kg de peso cerebral, desde aproximadamente 0,005 mg/kg de peso cerebral hasta 40 mg/kg de peso cerebral, desde aproximadamente 0,005 mg/kg de peso cerebral hasta 30 mg/kg peso cerebral, desde aproximadamente 0,005 mg/kg de peso cerebral hasta 20 mg/kg de peso cerebral, desde aproximadamente 0,005 mg/kg de peso cerebral hasta 15 mg/kg de peso cerebral, desde aproximadamente 0,005 mg/kg de peso cerebral a 10 mg/kg de peso cerebral.

[0089] Una dosis terapéuticamente eficaz puede ser o es mayor de aproximadamente 0,1 mg/kg peso del cerebro, de aproximadamente 0,5 mg/kg peso del cerebro, aproximadamente 1,0 mg/kg peso del cerebro, aproximadamente 3 mg/kg peso del cerebro, aproximadamente 5 mg/kg peso cerebral, aproximadamente 10 mg/kg de peso cerebral, aproximadamente 15 mg/kg de peso cerebral, aproximadamente 20 mg/kg de peso cerebral, aproximadamente 30 mg/kg de peso cerebral, aproximadamente 40 mg/kg de peso cerebral, aproximadamente 50 mg/kg de peso cerebral, aproximadamente 60 mg/kg de peso cerebral, aproximadamente 70 mg/kg de peso cerebral, aproximadamente 80 mg/kg de peso cerebral, aproximadamente 90 mg/kg de peso cerebral, aproximadamente 100 mg/kg de peso cerebral, aproximadamente 150 mg/kg de peso cerebral, aproximadamente 200 mg/kg de peso cerebral, aproximadamente 250 mg/kg de peso cerebral, aproximadamente 300 mg/kg de peso cerebral, aproximadamente 350 mg/kg de peso cerebral, aproximadamente 400 mg/kg de peso cerebral, aproximadamente 450 mg/kg de peso cerebral, o aproximadamente 500 mg/kg de peso cerebral.

[0090] La dosis terapéuticamente eficaz se puede ajustar por la edad o el peso corporal, especialmente en niños

menores de 3. Como un experto en la técnica apreciará, los pesos cerebrales cambian rápidamente durante los 3 primeros años de vida, alcanzando una meseta a partir de entonces y los pesos corporales se pueden correlacionar en niños pequeños. Mira, Dekaban AS. "Changes in brain weights during the span of human life: relation of brain weights to body heights and body weights", Ann Neurol 1978; 4: 345-56, Por lo tanto, los niños menores de 3 años pueden requerir una dosis ajustada (generalmente más pequeña) en comparación con los niños mayores y los adultos. Las dosis utilizadas en niños pequeños pueden ajustarse de acuerdo con la guía para el ajuste de la dosis según el peso del cerebro en niños pequeños que se proporciona a continuación (consulte la Tabla 3).

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Tabla 3. Cambio de peso de cerebro durante el desarrollo humano temprano

Grupo de edad	Edad (año)	N° de cerebros	Peso de cerebro (kg)				Altura de cuerpo (m)				Peso de cerebro (kg)			
			Media	DE	SEM	%Cambio ^a	Media	DE	SEM	%Cambio ^a	Media	DE	SEM	%Cambio ^a
1	NB (0-10 d)	241	0.38	0.09	0.00	...	0.50	0.05	0.00	...	2.95	0.47	0.03	...
2	0.5 (4-8 mo)	87	0.64	0.16	0.01	66.8	0.59	0.09	0.01	18.6	5.88	3.06	0.32	99.4
3	1 (9-18 mo)	33	0.97	0.16	0.02	50.6	0.76	0.11	0.02	28.5	9.47	2.37	0.41	61.2
4	2 (19-30 mo)	53	1.12	0.20	0.02	16.2	0.85	0.12	0.01	11.7	13.20	3.57	0.49	39.3
5	3 (31-43 mo)	19	1.27	0.21	0.04	12.8	0.94	0.09	0.02	11.0	15.55	3.43	0.78	17.9
6	4-5	29	1.30	0.02	0.00	2.3	1.06	0.03	0.00	12.8	19.46	1.21	0.22	25.1

[0091] La dosis terapéuticamente eficaz se puede definir por mg/15 cc de CSF. Como apreciará un experto en la materia, las dosis terapéuticamente eficaces basadas en el peso del cerebro y el peso corporal se pueden convertir en mg/15 cc de CSF. Por ejemplo, el volumen de LCR en humanos adultos es de aproximadamente 150 ml (Johanson CE, et al. "Multiplicity of cerebrospinal fluid functions: New challenges in health and disease," Cerebrospinal Fluid Res. 2008, 14 de mayo; 5:10). Por lo tanto, las inyecciones de dosis únicas de 0,1 mg a 50 mg de proteína para adultos serían aproximadamente de 0,01 mg/15 cc de LCR (0,1 mg) a 5,0 mg/15 cc de dosis de CSF (50 mg) en adultos.

[0092] Enzimas recombinantes I2S se pueden administrar a intervalos regulares. Por ejemplo, una dosis terapéuticamente efectiva se puede administrar por vía intratecal periódicamente a intervalos regulares, por ejemplo, una vez al año, una vez cada seis meses (o dos veces al año), una vez cada cinco meses, una vez cada cuatro meses, una vez cada tres meses, cada dos meses (una vez cada dos meses), mensualmente (una vez cada mes o una vez cada cuatro semanas), una vez cada tres semanas, cada dos semanas (una vez cada dos semanas), semanalmente (una vez cada semana) o en un intervalo variable. La enzima I2S se administra por vía intratecal en un intervalo de administración mensual de acuerdo con la invención.

[0093] La administración intratecal puede realizarse conjuntamente con la administración intravenosa de una enzima I2S recombinante. En algunas realizaciones, la administración intravenosa de una enzima I2S recombinante es semanal. En algunas realizaciones, la administración intravenosa de una enzima I2S recombinante es semanal, excepto la semana en que se realiza la administración intratecal. En algunas realizaciones, la administración intravenosa de una enzima I2S recombinante es quincenal, una vez cada tres semanas, mensualmente (una vez cada cuatro semanas), dos veces al mes, una vez cada dos, tres, cuatro, cinco o seis meses. En algunas realizaciones, la administración intravenosa de una enzima I2S recombinante es a una dosis de aproximadamente 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 o 1,0 mg/kg de peso corporal. En algunas realizaciones, la administración intravenosa de la enzima I2S recombinante es a una dosis de aproximadamente 0,5 mg/kg de peso corporal.

Dispositivo para la entrega intratecal

[0094] Varios dispositivos se pueden usar para la administración intratecal de acuerdo con la presente invención. En algunas realizaciones, un dispositivo para administración intratecal contiene un puerto de acceso fluido (por ejemplo, un puerto inyectable); un cuerpo hueco (por ejemplo, un catéter) que tiene un primer orificio de flujo en comunicación fluida con el puerto de acceso de fluido y un segundo orificio de flujo configurado para la inserción en la médula espinal; y un mecanismo de seguridad para asegurar la inserción del cuerpo hueco en la médula espinal. Como ejemplo no limitativo, un mecanismo de seguridad adecuado contiene uno o más dispositivos montados en la superficie del cuerpo hueco y un anillo suturado ajustable sobre uno o más dispositivos para evitar que el cuerpo hueco (por ejemplo, el catéter) se deslice fuera de la médula espinal. En diversas realizaciones, el puerto de acceso de fluido comprende un depósito. En algunas realizaciones, el puerto de acceso al fluido comprende una bomba mecánica (por ejemplo, una bomba de infusión). En algunas realizaciones, un catéter implantado está conectado a un reservorio (por ejemplo, para la administración de bolos) o a una bomba de infusión. El puerto de acceso al fluido puede ser implantado o externo.

[0095] En algunas realizaciones, la administración intratecal puede ser realizada por cualquiera de punción lumbar (es decir, en bolo lento) o por medio de un sistema de administración de puerto-catéter (es decir, la infusión o bolo). En algunas formas de realización, el catéter se inserta entre las láminas de las vértebras lumbares y la punta se enrosca en el espacio thecal al nivel deseado (generalmente L3-L4).

[0096] En relación con la administración intravenosa, un volumen de dosis única adecuado para la administración intratecal es típicamente pequeño. Típicamente, la administración intratecal de acuerdo con la presente invención mantiene el equilibrio de la composición del CSF así como la presión intracraneal del sujeto. En algunas realizaciones, la administración intratecal se realiza sin la eliminación correspondiente de CSF de un sujeto. En algunas realizaciones, un volumen de dosis única adecuado puede ser, por ejemplo, menos de aproximadamente 10 ml, 8 ml, 6 ml, 5 ml, 4 ml, 3 ml, 2 ml, 1,5 ml, 1 ml o 0,5 ml. En algunas realizaciones, un volumen de dosis única adecuado puede ser de aproximadamente 0,5-5 ml, 0,5-4 ml, 0,5-3 ml, 0,5-2 ml, 0,5-1 ml, 1-3 ml, 1-5 ml, 1,5-3 ml, 1-4 ml, o 0,5-1,5 ml. En algunas realizaciones, la administración intratecal de acuerdo con la presente invención implica una etapa de eliminar primero una cantidad deseada de CSF. En algunas realizaciones, menos de aproximadamente 10 ml (por ejemplo, menos de aproximadamente 9 ml, 8 ml, 7 ml, 6 ml, 5 ml, 4 ml, 3 ml, 2 ml, 1 ml) de CSF se elimina primero antes de la administración de IT. En esos casos, un volumen de dosis única adecuado puede ser, por ejemplo, más de aproximadamente 3 ml, 4 ml, 5 ml, 6 ml, 7 ml, 8 ml, 9 ml, 10 ml, 15 ml o 20 ml.

[0097] Varios otros dispositivos pueden utilizarse para efectuar la administración intratecal de una composición terapéutica. Por ejemplo, las formulaciones que contienen las enzimas deseadas se pueden administrar utilizando un reservorio de Ommaya que es de uso común para administrar medicamentos por vía intratecal para la carcinomatosis meníngea (Lancet 2: 983-84, 1963). Más específicamente, en este método, un tubo ventricular se inserta a través de un orificio formado en el asta anterior y se conecta a un reservorio Ommaya instalado debajo del cuero cabelludo, y el reservorio se punza subcutáneamente para administrar por vía intratecal la enzima particular que se reemplaza, que se inyecta en el embalse. Otros dispositivos para la administración intratecal de

composiciones terapéuticas o formulaciones a un individuo se describen en la Patente de EE.UU. N° 6.217.552, Alternativamente, el fármaco puede administrarse por vía intratecal, por ejemplo, mediante una inyección única o infusión continua. Debe entenderse que el tratamiento de dosificación puede ser en forma de una administración de dosis única o dosis múltiples.

[0098] Para la inyección, las formulaciones de la invención pueden formularse en soluciones líquidas. Además, la enzima puede formularse en forma sólida y volver a disolverse o suspenderse inmediatamente antes de su uso. También se incluyen formas liofilizadas. La inyección puede ser, por ejemplo, en forma de inyección de bolo o infusión continua (por ejemplo, utilizando bombas de infusión) de la enzima.

[0099] Típicamente, la administración intratecal puede ser a través de un acceso intermitente o continua a un dispositivo de administración de fármacos por vía intratecal implantado (IDDD). En otras realizaciones, la administración intratecal es a través de un suministro sostenido, por ejemplo, "liberación lenta" de una enzima I2S recombinante, a un sujeto durante al menos uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis días o uno, dos, tres, cuatro semanas o períodos más largos de tiempo.

[0100] Tal como se utiliza aquí, el término "liberación sostenida" se refiere a la administración continua de una formulación farmacéutica *in vivo* durante un período de tiempo después de la administración de, por ejemplo, al menos varios días, una semana o varias semanas. El suministro sostenido de la composición puede demostrarse, por ejemplo, mediante el efecto terapéutico continuado de la enzima a lo largo del tiempo (por ejemplo, el suministro sostenido de la enzima puede demostrarse mediante una cantidad reducida continuada de gránulos de almacenamiento en el sujeto). Alternativamente, el suministro sostenido de la enzima puede demostrarse detectando la presencia de la enzima *in vivo* a lo largo del tiempo.

Tolerancia inmune

[0101] En general, la administración intratecal de una enzima I2S recombinante de acuerdo con la presente invención no da lugar a efectos adversos graves en el sujeto. Como se usa en este documento, los efectos adversos graves inducen, pero no se limitan a, una respuesta inmune sustancial, toxicidad o muerte. Como se usa en el presente documento, el término "respuesta inmune sustancial" se refiere a respuestas inmunes graves o graves, tales como respuestas inmunes adaptativas de células T.

[0102] Por lo tanto, en muchas realizaciones, los métodos de la invención de acuerdo con la presente invención no implican terapia inmunosupresora concurrente (es decir, cualquier terapia inmunosupresora usada como tratamiento previo/pre-acondicionamiento o en paralelo al método). En algunas realizaciones, los métodos inventivos de acuerdo con la presente invención no implican una inducción de tolerancia inmune en el sujeto que se está tratando. En algunas realizaciones, los métodos inventivos de acuerdo con la presente invención no implican un tratamiento previo o un preacondicionamiento del sujeto usando un agente inmunosupresor de células T.

[0103] En algunas realizaciones, la administración intratecal de agentes terapéuticos puede montar una respuesta inmune contra estos agentes. Por lo tanto, en algunas formas de realización, puede ser útil hacer que el sujeto que recibe la enzima de reemplazo sea tolerante a la terapia de reemplazo de enzima. La tolerancia inmune puede inducirse usando diversos métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, un régimen inicial de 30-60 días de un agente inmunosupresor de células T como la ciclosporina A (CsA) y un agente antiproliferativo, como la azatioprina (Aza), combinados con infusiones semanales de dosis bajas de una enzima de reemplazo deseada puede ser usado.

[0104] Cualquier agente inmunosupresor conocido por el experto en la técnica puede emplearse junto con una terapia de combinación de la invención. Dichos agentes inmunosupresores incluyen, entre otros, ciclosporina, FK506, rapamicina, CTLA4-Ig y agentes anti-TNF como etanercept (véase, por ejemplo, Moder, 2000, Ann. Allergy Asthma Immunol. 84, 280-284; Nevins, 2000, Curr. Opin. Pediatr. 12, 146-150; Kurlberg et al., 2000, Scand. J. Immunol. 51, 224-230; Ideguchi et al., 2000, Neuroscience 95, 217-226; Potteret et al., 1999, Ann. NY Acad. Sci. 875, 159-174; Slavik et al., 1999, Immunol. Res. 19, 1-24; Gaziev et al., 1999, Bone Marrow Transplant. 25, 689-696; Henry, 1999, Clin. Transplant. 13, 209-220; Gummert et al., 1999, J. Am. Soc. Nephrol. 10, 1366-1380; Qi et al., 2000, Transplantation 69, 1275-1283). El anticuerpo anti-receptor de IL2 (subunidad- α) daclizumab (por ejemplo, Zenapax™), que se ha demostrado eficaz en pacientes trasplantados, también puede usarse como agente inmunosupresor (véase por ejemplo, Wiseman et al., 1999). Drugs 58, 1029-1042; Beniaminovitz et al., 2000, N. Engl. J. Med. 342, 613-619; Ponticelli et al., 1999, Drugs RD 1, 55-60; Berard et al., 1999, Pharmacotherapy 19, 1127-1137; Eckhoff et al., 2000, Transplantation 69, 1867-1872; Ekberg et al., 2000, Transpl. Int. 13, 151-159). Los agentes inmunosupresores adicionales incluyen, entre otros, anti-CD2 (Branco et al., 1999, Transplantation 68, 1588-1596; Przepiorka et al., 1998, Blood 92, 4066-4071), anti-CD4 (Marinova-Mutafchieva et al., 2000, Arthritis Rheum. 43, 638-644; Fishwild et al., 1999, Clin. Immunol. 92, 138-152), y el ligando anti-CD40 (Hong et al., 2000, Semin. Nephrol. 20, 108-125; Chirmule et al., 2000, J. Virol. 74, 3345-3352; Ito et al., 2000, J. Immunol. 164, 1230-1235).

Farmacocinética, farmacodinámica, y la biodisponibilidad

[0105] Entre otras cosas, el I2S recombinante administrado por vía intratecal muestra una farmacocinética, farmacodinámica y biodisponibilidad superiores en un paciente humano. La evaluación de los perfiles de concentración de tiempo I2S en el LCR puede evaluarse directamente mediante el muestreo de LCR o indirectamente midiendo los perfiles de concentración sistémica de suero I2S en el sistema. Sin embargo, normalmente, debido al número limitado de colecciones de muestras de LCR clínicamente permisibles, los perfiles farmacocinéticos y farmacodinámicos del I2S se evalúan indirectamente mediante un muestreo de la sangre periódicamente. Las siguientes abreviaturas estándar se utilizan para representar los parámetros farmacocinéticos asociados.

- 10 AUC_{inf} Área bajo la curva de concentración de plasma en función del tiempo hasta la última concentración medible más el AUC, calculada utilizando la regla trapezoidal lineal desde el punto de tiempo cero hasta la última concentración cuantificable y extrapolada de la última concentración medible ($C_{última}$ en la $t_{última}$) hasta el infinito: $AUC_{INFobs} = AUC_{0-t_{última}} + C_{última}/\lambda_z$ (donde λ_z es la constante de velocidad de primer orden asociada con la parte terminal (log-lineal) de la curva)
- 15 AUC_{0-12} Área bajo la curva entre el momento de la dosis y el punto de tiempo de 12 h
 AUC_{0-24} Área bajo la curva entre el momento de la dosis y el punto de tiempo de 24 h
 AUC_{ss} Exposición en estado estable para el intervalo de dosificación
 F Fracción disponible (biodisponibilidad):

$$20 \quad F = [AUC_{oral}] \cdot \text{dosis}_{iv} / [AUC_{iv}] \cdot \text{dosis}_{oral}$$

CL Eliminación

CL_r Eliminación renal, calculada para el período de estado estable de 24 horas según

$$25 \quad CL_r = \frac{U_e(0-24)}{AUC(0-24)}$$

Dónde se excreta el fármaco

- 30 CL/F . Eliminación corporal total aparente en función de la biodisponibilidad.

$$CL/F = \frac{\text{Dosis}}{AUC(0-24)}$$

- 35 V_{ss} Volumen de distribución en estado estacionario
 V_d Volumen de distribución
 V_z/F Volumen de distribución terminal aparente en función de la biodisponibilidad

$$40 \quad V_z/F = \frac{\text{Dosis}}{\lambda_z \times AUC(0-24)}$$

- 45 $t_{1/2}$ Vida media terminal (HL_{λ_z}), calculada por la ecuación $t_{1/2} = 0,693/k_{el}$
 C_{max} La concentración máxima observada, obtenida directamente del perfil de tiempo de concentración plasmática
 T_{max} El tiempo de C_{max} ; en más de un punto de tiempo, se elige el primero
 λ_z constante de velocidad de eliminación, calculada como el negativo de la pendiente del segmento log-lineal terminal de la concentración de plasma-curva de tiempo, donde la pendiente se determina a partir de una regresión lineal del logaritmo natural de las concentraciones plasmáticas terminales frente al tiempo; al menos 3 puntos de tiempo de concentración plasma terminal, empezar con la concentración final $\geq$ LOQ, se seleccionará para la determinación de λ_z y la regresión requerirá coeficiente de determinación (r^2) $\geq$ 0,9000.
 k_{el} La constante de velocidad de eliminación terminal se obtendrá a partir de la pendiente de la línea, ajustada por regresión lineal de mínimos cuadrados, a través de los puntos terminales de los perfiles de tiempo de concentración logarítmica (base e).
- 50
- 55

[0106] Típicamente, los tiempos de recolección de muestras de sangre reales en relación con el inicio de la administración intratecal de I2S se usan en el análisis IT PK. Por ejemplo, las muestras de sangre se recolectan típicamente dentro de los 15 o 30 minutos antes de la administración intratecal de I2S (línea de base de preinyección o tiempo 0) y a 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120, 132, 144, 156, 168 o 180 horas después de la administración intratecal. Si se administra IT junto con la administración IV, para el análisis IV PK, las muestras de sangre se recolectan 15 o 30 minutos antes de la infusión IV (línea de base previa a la infusión o tiempo 0) y a 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 y 3 horas durante la infusión (si la infusión dura 3 horas) y a las 3,5, 4,5, 6, 7, 9, 11 y 24 horas después del inicio de la infusión IV.

[0107] Varios métodos pueden ser usados para medir la concentración de proteína I2S en el suero. Como ejemplo

no limitativo, se utilizan métodos de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA).

[0108] Los parámetros farmacocinéticos para I2S pueden determinarse usando (es decir, POP-PR) los métodos de análisis basados en población (es decir, POP-PE) conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, los parámetros farmacocinéticos para I2S se determinan mediante análisis no compartimental utilizando la versión 6,1 de Phoenix (Pharsight Corporation, Mountain View, CA).

[0109] Los parámetros farmacocinéticos se pueden evaluar en cualquier etapa durante el tratamiento, por ejemplo, en la semana 1, semana 2, semana 3, semana 4, semana 5, semana 6, semana 7, semana 8, semana 9, semana 10, semana 12, semana 13, semana 14, semana 15, semana 16, semana 17, semana 18, semana 19, semana 20, semana 21, semana 22, semana 23, semana 24 o posterior. En algunas realizaciones, los parámetros farmacocinéticos pueden evaluarse en el mes 1, mes 2, mes 3, mes 4, mes 5, mes 6, mes 7, mes 8, mes 9, mes 10, mes 11, mes 12, mes 13, mes 14, mes 15, mes 16, mes 17, mes 18, mes 19, mes 20, mes 21, mes 22, mes 23, mes 24 o posterior durante el tratamiento.

[0110] Típicamente, como se describe en la sección de Ejemplos, tras la administración intratecal, las concentraciones séricas de I2S aumentaron lentamente.

[0111] En algunas realizaciones, la biodisponibilidad sistémica de I2S después de la administración intratecal varía de aproximadamente 20-90% (por ejemplo, aproximadamente 20-80%, 20-75%, 20-70%, 20-65%, 60-60%, 20-55%, 20-50%, 30-90%, 30-80%, 30-75%, 30-70%, 30-65%, 30-60%, 30-55%, 30-50%, 40-90%, 40-80%, 40-75%, 40-70%, 40-65%, 40-60%, 40-55%, 40-50%, 50-90%, 50-80%, 50-75%, 50-70%, 50-65%, 50-60%). En algunas realizaciones, la biodisponibilidad sistémica de I2S después de la administración intratecal es o es mayor que aproximadamente 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85% o 90%.

[0112] En algunas realizaciones, diversos regímenes de dosificación descritos en este documento (es decir, una dosis terapéuticamente eficaz administradaa regularmente en el intervalo de administración) resulta en suero AUC_{ss} de la enzima I2S recombinante dentro de un intervalo de aproximadamente 200.000 min.ng/mL a aproximadamente 1.000.000 min.ng/mL (por ejemplo, desde aproximadamente 250.000 min.ng/mL a aproximadamente 900.000 min.ng/mL, desde aproximadamente 300.000 min.ng/mL a aproximadamente 800.000 min.ng/mL, desde aproximadamente 350.000 min. ng/mL hasta aproximadamente 700.000 min.ng/mL, desde aproximadamente 400.000 min.ng/mL hasta aproximadamente 600.000 min.ng/mL).

[0113] En algunas realizaciones, diversos regímenes de dosificación descritos en este documento (es decir, una dosis terapéuticamente eficaz, administrada regularmente en el intervalo de administración) resulta en la concentración sérica máxima (C_{max}) de la enzima I2S recombinante en un intervalo de aproximadamente 60 a aproximadamente 300 ng/ml (por ejemplo, de aproximadamente 70 a aproximadamente 250 ng/ml, de aproximadamente 70 a aproximadamente 200 ng/ml, de aproximadamente 70 a aproximadamente 150 ng/ml, de aproximadamente 80 a aproximadamente 250 ng/ml, de aproximadamente 80 a aproximadamente 200 ng/ml, de aproximadamente 80 a aproximadamente 150 ng/ml, de aproximadamente 90 a aproximadamente 250 ng/ml, de aproximadamente 90 a aproximadamente 200 ng/ml, de aproximadamente 90 a aproximadamente 150 ng/ml).

Reducir los niveles de GAG

[0114] Como se describió anteriormente, el síndrome de Hunter, o mucopolisacaridosis II (MPS II), es un trastorno metabólico hereditario ligado al cromosoma X que resulta de una deficiencia de la enzima iduronato-2-sulfatasa (I2S). El I2S se localiza en los lisosomas y desempeña un papel importante en el catabolismo de los glicosaminoglicanos (GAG) sulfato de heparán y dermatán. En ausencia de enzima, estos sustratos se acumulan dentro de las células, causando en última instancia la ingurgitación, seguido de la muerte celular y la destrucción del tejido. Debido a la expresión generalizada de la enzima, múltiples tipos de células y sistemas de órganos se ven afectados en pacientes con MPS II.

[0115] Por lo tanto, el síndrome de Hunter se caracteriza por una acumulación de glicosaminoglicanos (GAG) en los lisosomas de células afectadas, incluyendo tanto las células somáticas como CNS. Un paciente que sufre o es susceptible al síndrome de Hunter tiene niveles anormalmente altos de GAG en el LCR, la orina y/o la sangre. Por ejemplo, en la orina, el rango de referencia normal de los niveles de uGAG, dependiendo de la edad, varía entre 57 y 487 ug/mg de creatinina. Sin embargo, los pacientes con síndrome de Hunter sin tratamiento pueden tener altos niveles de uGAG, por ejemplo, más de aproximadamente 1000 ug/mg de creatinina, 1050 ug/mg de creatinina, 1100 ug/mg de creatinina, 1150 ug/mg de creatinina, 1200 ug/mg de creatinina, 1250 ug/mg de creatinina, 1300 ug/mg de creatinina, 1350 ug/mg de creatinina, 1400 ug/mg de creatinina, 1450 ug/mg de creatinina o 1500 ug/mg de creatinina.

[0116] Los pacientes con síndrome de Hunter y el deterioro cognitivo, por lo general también tienen niveles anormalmente altos de GAG en el LCR. Por ejemplo, el nivel de GAG en LCR en niños sanos generalmente está por debajo del límite inferior de cuantificación (LLOQ) y en adultos sanos jóvenes, el nivel de GAG en LCR está típicamente entre más bajo que LLOQ a aproximadamente 95 ng/ml. Sin embargo, en un paciente con síndrome de

Hunter, la medición inicial previa al tratamiento del nivel de GAG en el LCR puede ser mayor que aproximadamente 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500 o 2000 ng/ml.

[0117] Por lo tanto, los cambios desde el inicio en las concentraciones de GAG en la orina, la sangre y/o el CSF se pueden usar como biomarcadores indicativos de la actividad farmacodinámica y/o la eficacia de I2S *in vivo*. En particular, los cambios desde el inicio en las concentraciones de GAG en CSF se pueden usar como biomarcadores indicativos de la actividad farmacodinámica de I2S en CSF después de la administración intratecal o como criterios de valoración para la eficacia. Por ejemplo, según la presente invención, una enzima I2S recombinante se administra por vía intratecal a una dosis terapéuticamente efectiva y un intervalo de administración durante un período de tratamiento suficiente para disminuir el nivel de glicosaminoglicano (GAG) en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y/o la orina en relación con un control. Como se usa en el presente documento, el término "disminución" o equivalente como "reducir" o equivalentes gramaticales, indica una medición del nivel de GAG que es relativa a una medición de referencia, como una medición en el mismo individuo antes de iniciar el tratamiento., o una medición en un individuo control (o individuos de control múltiple) en ausencia del tratamiento.

[0118] En algunas realizaciones, la administración intratecal de una enzima I2S recombinante de acuerdo con la presente invención resulta de los niveles de GAG en LCR, orina y/o sangre es de alrededor del 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100% o más en comparación con un control (p. ej., medición de referencia). En algunas realizaciones, la administración intratecal de una enzima I2S recombinante de acuerdo con la presente invención resulta en una reducción del nivel de GAG en el LCR, la orina y/o la sangre en al menos 1 vez, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces en comparación con un control (por ejemplo, la medición de la línea de base).

[0119] En algunas realizaciones, la administración intratecal de una enzima I2S recombinante produce un nivel de GAG en la orina inferior a aproximadamente 1.000 µg/mg de creatinina (por ejemplo, inferior a aproximadamente 900 µg/mg de creatinina, 800 µg/mg de creatinina, 700 µg/mg de creatinina, 600 µg/mg de creatinina o 500 µg/mg de creatinina).

[0120] Se conocen diversos métodos para medir el nivel de GAG en el LCR o en la orina en la técnica. Los métodos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, espectrometría de masas en tándem de ionización por electropulverización (con y sin cromatografía líquida), HPLC o ensayos basados en LC-MS como se describe en Lawrence R. et al. Nat. Chem. Biol.; 8 (2): 197-204. En algunas realizaciones, el nivel de GAG se mide al final de cada ciclo de dosificación (por ejemplo, al final de cada mes después de la administración intratecal mensual), Es decir, inmediatamente antes de la siguiente dosificación. El nivel de GAG también se puede medir al comienzo o en la mitad de cada ciclo de dosificación (por ejemplo, al comienzo o en la mitad de cada mes después de la administración intratecal mensual).

[0121] En algunas realizaciones, se consigue una reducción del nivel de GAG en el LCR descrito en este documento después de un período de tratamiento de al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18, 24, o más meses. En algunas realizaciones, una reducción del nivel de GAG en el LCR descrito aquí se logra después de un período de tratamiento de al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 años o más.

[0122] En diversas realizaciones, la administración intratecal de una enzima I2S recombinante se puede usar para mantener el nivel de GAG en el LCR a un nivel bajo (por ejemplo, inferior a aproximadamente 1.000 ng/ml, 900 ng/ml, 800 ng/ml, 700 ng/ml, 600 ng/ml, 500 ng/ml, 400 ng/ml, 300 ng/ml, 200 ng/ml, 100 ng/ml, 50 ng/ml, 10 ng/ml o 1 ng/ml) durante más de 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 meses o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, años, o el tiempo de vida del paciente tratado. En diversas realizaciones, la administración intratecal de una enzima I2S recombinante se puede usar para mantener el nivel de GAG en la orina a un nivel bajo (por ejemplo, inferior a aproximadamente 1.000 µg/mg de creatinina, 900 µg/mg de creatinina, 800 µg/mg creatinina, 700 µg/mg de creatinina, 600 µg/mg de creatinina o 500 µg/mg de creatinina) por más de 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 meses o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, años, o el tiempo de vida del paciente que está siendo tratado.

[0123] En diversas realizaciones, el nivel de GAG en LCR, orina y/o sangre también se puede usar como biomarcador para monitorear y/o optimizar el tratamiento. Por ejemplo, la dosis y/o el intervalo de administración para la administración intratecal y/o intravenosa (si la administración intratecal se usa junto con la administración intravenosa) se puede ajustar según el nivel de GAG en el LCR, la orina y/o la sangre. En algunas realizaciones, la dosis para administración intratecal puede aumentar si el nivel de GAG en el LCR o en la orina o la sangre no disminuye con respecto al control de referencia después de 6, 5, 4 o 3 dosis. En realizaciones particulares, la dosis para administración intratecal puede aumentarse si el nivel de GAG en el LCR, la orina o la sangre no disminuye con respecto al control de referencia después de 4 dosis.

[0124] Los términos, "mejorar", "aumentar" o "reducir", como se usa en el presente documento, indican valores que son con respecto a un control. En algunas realizaciones, un control adecuado es una medición de línea de base, como una medición en el mismo individuo antes del inicio del tratamiento descrito en este documento, o una medición en un individuo de control (o múltiples individuos de control) en ausencia del tratamiento descrito en este documento. Un "individuo de control" es un individuo afectado por la misma enfermedad, que tiene aproximadamente la misma edad y/o sexo que el individuo que está siendo tratado (para garantizar que las etapas

de la enfermedad en el individuo tratado y en el (los) individuo(s) de control e (son) comparable(s).

[0125] El individuo (también conocido como "paciente" o "sujeto") que se está tratando es un individuo (feto, bebé, niño, adolescente o adulto) que tiene la enfermedad o que tiene el potencial de desarrollarla. En algunas realizaciones, un sujeto que necesita tratamiento tiene un nivel de GAG en el CSF mayor que aproximadamente 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500 o 2000 ng/ml antes del tratamiento. En algunas realizaciones, un sujeto que necesita tratamiento tiene un nivel de GAG en la orina superior a aproximadamente 1000 µg/mg de creatinina, 1050 µg/mg de creatinina, 1100 µg/mg de creatinina, 1150 µg/mg de creatinina, 1200 µg/mg de creatinina, 1250 µg/mg de creatinina, 1300 µg/mg de creatinina, 1350 µg/mg de creatinina, 1400 µg/mg de creatinina, 1450 µg/mg de creatinina o 1500 µg/mg de creatinina.

[0126] También se pueden usar otros biomarcadores del síndrome de Hunter para practicar la presente invención, por ejemplo, cofactor de heparina II-complejo de trombina como se describe en DR Randall et al., "Heparin cofactor II-thrombin complex: A biomarker of MPS disease," *Molecular Genetics and Metabolism* 94 (2008) 456-461,

Tratamiento del deterioro cognitivo

[0127] Una característica clínica definitiva del síndrome de Hunter es la degeneración del sistema nervioso central (CNS), lo que resulta en el deterioro cognitivo (por ejemplo, disminución de CI). Además, las imágenes de resonancia magnética de los individuos afectados han revelado lesiones de la materia blanca, espacios perivasculares dilatados en el parénquima cerebral, ganglios, cuerpo calloso y tronco cerebral; atrofia; y ventriculomegalia (Wang et al. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2009). La enfermedad se manifiesta típicamente en los primeros años de vida con organomegalia y anomalías esqueléticas. Algunas personas afectadas experimentan una pérdida progresiva de la función cognitiva, y la mayoría de las personas afectadas mueren por complicaciones asociadas a la enfermedad en su primera o segunda década.

Evaluación del rendimiento cognitivo

[0128] Típicamente, el rendimiento cognitivo puede evaluarse mediante un instrumento de rendimiento cognitivo. Como se usa en este documento, el término "instrumento de rendimiento cognitivo" incluye una prueba de rendimiento cognitivo que se puede usar para evaluar, clasificar y/o cuantificar una o más funciones cognitivas, motoras adaptativas y/o ejecutivas en un sujeto. Como entenderán los expertos en la materia, tal prueba puede ser un cuestionario o una encuesta completada por un paciente, cuidador, padre, maestro, terapeuta o psicólogo. Los instrumentos de rendimiento cognitivo ejemplares adecuados para evaluar las funciones cognitivas, motoras adaptativas y/o ejecutivas se describen a continuación.

Escala de habilidades diferenciales (DAS-II)

[0129] En algunas realizaciones específicas, el instrumento de rendimiento cognitivo es la Escala de Habilidad Diferencial. La Escala de Habilidad Diferencial, como su nombre lo indica, fue desarrollada específicamente para ser adecuada para pacientes con diversos tipos de discapacidad. El DAS-II es una prueba cognitiva que está diseñada principalmente como una prueba de perfil que arroja puntuaciones para una amplia gama de habilidades, que se miden mediante subpruebas o compuestos. Sin embargo, se ha utilizado como una prueba general de la capacidad cognitiva, incluso en poblaciones gravemente afectadas. El DAS-II consta de 2 baterías superpuestas. La batería Early Years está diseñada para niños de 2 años de 6 meses a 6 años y 11 meses. La batería para la edad escolar está diseñada para niños de 7 años de 0 a 17 años y de 11 meses. Una característica clave de estas baterías es que fueron totalmente coordinadas durante las edades de 5 años 0 meses a 8 años 11 meses. En consecuencia, a los niños de 7 años 0 meses a 8 años se les puede dar la batería de Early Years si eso se considera más apropiado para el desarrollo de una persona que la batería de edad escolar. Del mismo modo, a los niños más capaces, de 5 años de edad, de 0 meses a 6 años, se les puede dar la batería para la edad escolar. Como resultado, la prueba se adapta a todos los niños de 5 a 8 años (es decir, de 5 años 0 meses a 8 años y 11 meses) en los extremos del rango de capacidad.

[0130] El DAS-II ha sido validado y normado en la población de los EE.UU. y en la población británica (como el BAS, o la Escala de Habilidades Británica). Se espera que esté disponible una versión en español, diseñada para su uso en España y Latinoamérica de habla hispana, en el otoño de 2012. El DAS-II incorpora "pruebas personalizadas" para que los examinadores puedan seleccionar los elementos más apropiados para un niño. Esto tiene dos grandes ventajas. Primero, permite que la medida sea precisa y muy eficiente en el tiempo, lo que es una gran ventaja para el examinador. En segundo lugar, hace que las pruebas sean más cortas y menos agotadoras para el niño y, a menudo, permiten que el niño suspenda una subprueba antes de haber experimentado una serie de fracasos consecutivos, una ventaja para el niño, ya que las pruebas son más agradables y motivadoras. Sin ser un ejemplo limitante, la Tabla 4 describe una pluralidad de subpruebas capaces de medir diferentes capacidades cognitivas, para un sujeto que se somete a una terapia de reemplazo enzimático. La Figura 19 muestra las mismas subpruebas y los rangos de edad en los que están normalizadas.

Tabla 4. Lista de instrumentos de rendimiento cognitivo

	Subprueba	Abreviatura	Habilidades medidas
5	Proceso de copiar	Copia	Coincidencia visual-perceptiva y coordinación motriz fina en la copia de dibujos lineales
	Conceptos de números tempranos	ENC	Conocimiento de conceptos pre-numéricos y numéricos
10	Correspondencia de formas parecidas a letras	MLLF	Discriminación visual entre formas similares
	Matrices	Mat	Razonamiento no verbal: percepción y aplicación de relaciones entre las figuras abstractas
15	Nombramiento de vocabulario	NVoc	Lenguaje expresivo; conocimiento de los nombres
	Construcción de patrones	PCon	Coincidencia visual-perceptiva, especialmente de orientación espacial, en la copia de patrones de bloques. Razonamiento no verbal y visualización espacial en reproducciones de diseños con bloques de colores
20	Construcción de patrones (alt)	PCon (A)	Las mismas habilidades para la construcción de patrones sin restricción de tiempo.
	Procesamiento fonológico	PhP	Conocimiento de la estructura sonora de la lengua inglesa y la capacidad de manipular el sonido
25	Similitudes de imágenes	PSim	El razonamiento no verbal se muestra al emparejar imágenes que tienen un elemento o concepto común
	Nombramiento rápido	RNam	Automaticidad de integración de símbolos visuales con nombre fonológicamente referenciado
30	Recuperación de diseños	RDes	Recuperación a corto plazo de relaciones visuales y espaciales a través de la reproducción de figuras abstractas
	Recuperación de dígitos hacia adelante	DigF	Memoria auditiva a corto plazo y memoria oral de secuencias de números
35	Recuperación de dígitos hacia atrás	DigB	Memoria auditiva a corto plazo y memoria oral de secuencias de números
	Recuperación de objetos - Inmediata	RObl	Recuperación a corto plazo de información verbal y pictórica
	Recuperación de objetos - Retrasada	RObD	Recuperación a medio plazo de información verbal y pictórica
40	Recuperación de orden secuencial	SeqO	Recuperación a corto plazo de información verbal y pictórica
	Reconocimiento de imágenes	RPic	Memoria visual no verbal a corto plazo medida a través de reconocimiento de objetos familiares
45	Razonamiento secuencial y cuantitativo.	SQR	Detección de patrones secuenciales en figuras o números
	Velocidad de procesamiento de la información.	SIP	Rapidez en la realización de operaciones mentales simples
50	Comprensión verbal	VCom	Lenguaje receptivo: comprensión de instrucciones orales que involucran conceptos básicos de lenguaje
	Similitudes verbales	VSim	Razonamiento verbal y conocimiento verbal
55	Definiciones de palabras	WDef	Conocimiento de los significados de las palabras tal como se demuestra a través del lenguaje hablado

Escalas de Comportamiento Independiente Revisado (SIB-R)

[0131] En algunas realizaciones específicas, el instrumento de rendimiento cognitivo son las escalas de comportamiento independiente revisado. Las Escalas de Comportamiento Independiente Revisadas (SIB-R) son una medida del comportamiento adaptativo que comprende 14 subescalas organizadas en 4 grupos de comportamientos adaptativos: (1) Habilidades motoras, (2) Interacción social/Comunicación, (3) Habilidades para la vida personal y (4) Habilidades comunitarias y de vida. Para cada elemento, el evaluador se presenta con declaraciones que les piden que evalúen la capacidad y la frecuencia con que el individuo calificado puede realizar o realiza, en su totalidad, una tarea particular sin ayuda o supervisión. El desempeño del individuo se califica en una escala Likert de 4 puntos, con respuestas que incluyen (0): Nunca o Rara vez, incluso si se pregunta; (1) Si, pero no bien, o aproximadamente una

cuarta parte del tiempo; (2) bastante bien - o alrededor de tres cuartos de las veces - puede ser necesario pedir; (3) hace muy bien, siempre o casi siempre sin que se lo pidan.

[0132] También mide 8 áreas de comportamiento problemático. El SIB-R proporciona normas desde la infancia hasta la edad de 80 años o más. Se ha utilizado en niños con autismo y discapacidad intelectual. Algunos expertos consideran que una de las fortalezas del SIB-R es que tiene aplicación para las habilidades de adaptación básicas y las conductas problemáticas de los niños con trastornos cognitivos o del espectro autista significativos y puede asignarse a los niveles de apoyo de la Asociación Americana de Retraso Mental. Se considera que el SIB-R es mucho menos vulnerable a la exageración que algunas otras medidas de conductas adaptativas.

Escalas de Desarrollo Infantil de Bayley

[0133] En algunas realizaciones, la evaluación de la función de desarrollo se puede realizar usando uno o más instrumentos de rendimiento de desarrollo. En algunas realizaciones, el instrumento de desempeño del desarrollo es las Escalas de Desarrollo Infantil de Bayley (bsID-III). Las Escalas de Desarrollo Infantil de Bayley son una serie estándar de mediciones que se utilizan principalmente para evaluar el desarrollo motor (fino y grueso), el lenguaje (receptivo y expresivo) y el desarrollo cognitivo de bebés y niños pequeños, de 0 a 3 años. Esta medida consiste en una serie de tareas de juego de desarrollo y toma entre 45 y 60 minutos para administrarse. Los puntajes brutos de los artículos completados con éxito se convierten en puntajes de escala y puntajes compuestos. Estos puntajes se usan para determinar el desempeño del niño en comparación con las normas tomadas de los niños con su desarrollo típico de su edad (en meses). La evaluación se usa a menudo junto con el Cuestionario de comportamiento adaptativo socioemocional. Completado por el padre o cuidador, este cuestionario establece el rango de conductas adaptativas que el niño puede lograr actualmente y permite la comparación con las normas de edad.

Escala de Inteligencia de Wechsler para Niños (WISC)

[0134] En algunas realizaciones, la Escala de Inteligencia de Wechsler para Niños (WISC) se puede realizar. Por lo general, la prueba WISC es una prueba de inteligencia administrada individualmente para niños, en particular, niños entre las edades de 6 y 16 años inclusive. En algunas realizaciones, la prueba WISC se puede completar sin leer ni escribir. Una puntuación WISC generalmente representa la capacidad cognitiva general de un niño.

Escalas de comportamiento adaptativo de Vineland

[0135] En algunas realizaciones, se realizan Escalas de Comportamiento Adaptativo de Vineland. Por lo general, las escalas de comportamiento adaptativo de Vineland miden el nivel de funcionamiento adaptativo de una persona. Por lo general, el contenido y las escalas de comportamiento adaptativo de Vineland se organizan en una estructura de tres dominios: comunicación, vida diaria y socialización. Esta estructura corresponde a los tres Dominios amplios del funcionamiento adaptativo reconocidos por la American Association of Mental Retardation (AAMR, 2002): Conceptual, Practical, and Social. Además, las escalas de comportamiento adaptativo de Vineland ofrecen un dominio de habilidades motoras y un índice de comportamiento inadaptado opcional para proporcionar información más detallada

[0136] Instrumentos de rendimiento cognitivo ejemplares adicionales adecuados para la presente invención se enumeran en las figuras 19 y 20,

Volumen de la estructura del cerebro

[0137] Además de las diversas pruebas estandarizadas descritas en el presente documento, el volumen de la estructura cerebral se puede usar para evaluar la salud y la función cerebral. Por ejemplo, tal análisis puede realizarse examinando el volumen total de materia gris cortical, derivado del análisis automatizado de las exploraciones de imágenes de resonancia magnética cerebral en serie (IRM).

Mejora cognitiva

[0138] De acuerdo con la invención, una enzima iduronato-2-sulfatasa (I2S) recombinante se administra por vía intratecal a una dosis terapéuticamente eficaz de 10 mg o 30 mg y un intervalo de administración mensual durante un período suficiente para mejorar, estabilizar o reducir la disminución de una o más funciones cognitivas, adaptativas, motoras y/o ejecutivas relacionadas con un control. Como se usa en el presente documento, los términos "mejorar", "estabilizar" o "reducir", o equivalentes gramaticales, indican una evaluación o medición de las funciones cognitivas, adaptativas, motoras y/o ejecutivas (por ejemplo, puntuaciones de pruebas cognitivas) que son relativas a una evaluación o medición de referencia, como una evaluación o medición en el mismo individuo antes del inicio del tratamiento descrito en este documento, o una evaluación o medición en un individuo de control (o individuos de control múltiple) en ausencia del tratamiento descrito en este documento.

[0139] Varios instrumentos cognitivos, incluidos los descritos en el presente documento, pueden usarse para evaluar una o más funciones cognitivas, adaptativas, motoras y/o ejecutivas. En algunas realizaciones, se usan las Escalas

de Habilidad Diferencial-Segunda Edición (DAS-II). La evaluación DAS-II puede presentarse como puntuación bruta, puntuación grupal, puntuación estandarizada, percentil de edad equivalente o cociente de desarrollo. En algunas realizaciones, la evaluación DAS-II se presenta como una puntuación de capacidad conceptual general (ACG). En algunas formas de realización, se utiliza la versión III (bsID-111) de Escalas de Desarrollo Infantil de Bayley.

[0140] En diversas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante da como resultado una puntuación GCA mejorada o un cociente de desarrollo BSID-III en relación con un control (p. ej., una puntuación inicial antes del tratamiento) después de un período de tratamiento de o más de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 meses, o 1, 2, 3, 4, 5, 10 años. Por ejemplo, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante puede mejorar la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III en 5, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30 puntos o más en comparación con un control (p. ej., puntuación inicial antes del tratamiento) después de un período de tratamiento de más de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o 18 meses. En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante puede mejorar la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III en un 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50% o más en comparación con un control (p. ej., puntuación inicial previa al tratamiento) después de un período de tratamiento de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o 18 meses. En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante puede dar como resultado una puntuación GCA mejorada o un cociente de desarrollo BSID-III dentro del rango de 70-105 (por ejemplo, 70-100, 70-95, 70-90, 75-105, 75-100, 75-95, 75-90, 80-105, 80-100, 80-95, 80-90) después de un período de tratamiento de más de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o 18 meses. En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante puede dar como resultado una puntuación GCA mejorada o un cociente de desarrollo BSID-III de 70, 75, 80, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 90 puntos o más después de un período de tratamiento de o más de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o 18 meses. Típicamente, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante también puede mantener la puntuación mejorada por un período de o más de 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 o 36 meses. Como se usa en este documento, mantener la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III significa que el cambio de la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III es menor que 10, 9, 8, 7, 6 o 5 puntos dentro de un período de 3, 6, 8, 10, 12 meses o el cambio de la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III durante un período de 3, 6, 8, 10, 12 meses dentro del 20%, 15%, 10%, 5% de la media sobre dicho período.

[0141] En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante da como resultado la estabilización de la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III en relación con la evaluación inicial previa al tratamiento después de un período de tratamiento de o más de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 meses, o 1, 2, 3, 4, 5, 10 años. En algunas realizaciones, la estabilización ocurre después de la disminución inicial de la puntuación GCA o del cociente de desarrollo BSID-III. Por ejemplo, la estabilización puede seguir después de una disminución de no menos del 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15% o 10% de la puntuación GCA o cociente de desarrollo BSID-III desde la línea de base. En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante puede estabilizar la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III por un período de o más de 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, o 36 meses. En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante puede estabilizar la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III durante un período de 3-36 meses (por ejemplo, 3-33, 3-30, 3-27, 3-24, 3-21, 3-18, 3-15, 3-12, 3-9, 3-6, 6-36, 6-33, 6-30, 6-27, 6-24, 6-21, 6-18, 6-15, 6-12, 6-9 meses).

[0142] En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante produce una disminución reducida del cociente de desarrollo GCAscore o BSID-III en relación con un control (por ejemplo, la puntuación inicial antes del tratamiento) después de un período de tratamiento de o mayor a 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 meses, o 1, 2, 3, 4, 5, 10 años. Por ejemplo, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante puede dar como resultado la disminución anual de la puntuación GCA o el cociente de desarrollo BSID-III inferior a aproximadamente 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, o 10 puntos. En algunas realizaciones, la administración intratecal de la enzima I2S recombinante puede resultar en la disminución anual de la puntuación GCA o del cociente de desarrollo BSID-III inferior a aproximadamente 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, o 10%.

[0143] En algunas realizaciones, la mejora cognitiva descrita en este documento se alcanza después de un período de tratamiento de al menos 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 30, 36, o más meses. En algunas realizaciones, la mejora cognitiva descrita en este documento se logra después de un período de tratamiento de al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 años o más.

[0144] En diversas realizaciones, la administración intratecal de una enzima I2S recombinante puede usarse para mantener la mejora cognitiva descrita en este documento para más de 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 meses, o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, años, o el tiempo de vida del paciente que está siendo tratado.

[0145] En diversas realizaciones, una o más funciones cognitivas, adaptativas, motoras, y/o ejecutivas también se pueden utilizar como biomarcadores para controlar y/o optimizar el tratamiento. Por ejemplo, la dosis y/o el intervalo de administración para la administración intratecal y/o intravenosa (si la administración intratecal se usa junto con la administración intravenosa) se puede ajustar (por ejemplo, aumentar o disminuir) según la puntuación GCA, BSID-III, SIB-R, y/o BRIEF. En algunas realizaciones, si la puntuación GCA, BSID-III, SIB-R y/o BRIEF no mejora después de 4, 5 o 6 dosis, la dosis para administración intratecal puede aumentar.

[0146] Se contempla que comenzar la terapia intratecal temprana en la trayectoria del deterioro del desarrollo neurológico puede ser particularmente eficaz en el tratamiento del deterioro cognitivo.

[0147] La invención se entenderá más plenamente por referencia a los siguientes ejemplos. Sin embargo, no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención como se reivindica.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Evaluación de los niveles de concentración de suero de I2S y/o CSF en sujetos pediátricos

[0148] Los experimentos presentados en este ejemplo se diseñaron para evaluar modelos adecuados para determinar la concentración I2S predictiva en el suero y/o CSF y analizar la concentración I2S observada vs. predicha en sujetos pediátricos tras la dosificación IV o IT.

[0149] En primer lugar, se realizaron experimentos para investigar diversos modelos compartimentales y su capacidad respectiva para ajustar los datos de concentración de suero y CSF después de la administración IV e IT-L de I2S en sujetos humanos. Los perfiles de concentración media en el tiempo de I2S después de la administración IV y IT-L de varias dosis de I2S se determinaron en suero y LCR utilizando métodos estándar.

[0150] El modelado de estructura se utilizó para construir un modelo de 2 compartimentos (Figura 1), así como los parámetros que demuestran el intercambio intercompartimental entre el plasma y CSF (Figura 2). El análisis predictivo para la administración de IV y de IT se evaluó utilizando modelos humanos y alométricos para estimar varios parámetros de I2S en varias matrices (por ejemplo, suero y LCR) en niños (Figuras 3 y 4). Para evaluar el modelo humano, se analizó la concentración de suero I2S después de la administración IV o IT en pacientes humanos mediante un ensayo ELISA. Según lo indicado por los datos, el uso de un modelo humano proporciona una predicción precisa de la concentración de suero I2S para la administración de IT y IV basada en datos de primates no humanos, en comparación con los valores observados.

[0151] Sin embargo, dada la diferencia de altura, el peso y la masa corporal entre los seres humanos y sujetos primates no humanos, se realizaron estudios adicionales para evaluar el uso de un modelo alométrico. Los niveles de concentración sérica de I2S se midieron tanto en sujetos pediátricos como en primates no humanos en diversos puntos temporales, después de la administración de IT-L. Se calculó un factor de corrección basado en la diferencia en la relación entre el peso corporal y el cerebro para humanos y primates no humanos. La Figura 5 muestra los parámetros farmacocinéticos (PopPK) de la población a escala alométrica para pediatría para IT-I2S después de la corrección de la diferencia entre la relación cerebro/BW entre primates no humanos (NHP) y los niños. Para el suero y en el CSF, se realizaron cálculos para estimar los valores predictivos de los diversos parámetros dentro de dos grupos de sujetos: sujetos pediátricos menores de 6 años y juveniles de 6-17 años. Los cálculos se realizaron tomando el valor farmacocinético estimado para cada parámetro en primates no humanos y corrigiendo las diferencias, utilizando una relación de peso cerebro/cuerpo de primate no humano sobre niño (Figura 5). Se usó un peso promedio de 2,73 kg para primates no humanos. Los parámetros se escalaron utilizando el peso corporal medio (20,6 kg) de los sujetos pediátricos clínicos humanos (Figura 5). La Figura 6, muestra una gráfica de Dedrick elemental ejemplar de concentración de I2S en suero con escala BW en función del tiempo en escala en sujetos pediátricos y monos después de la dosificación de IT-L.

[0152] Las concentraciones séricas de I2S obtenidas de sujetos pediátricos se analizaron y evaluaron, comparándolas con las concentraciones séricas previstas utilizando el modelo y los métodos descritos anteriormente. La Figura 7 ilustra la concentración sérica observada frente a la predicción: el perfil de tiempo de I2S en pacientes pediátricos después de una única infusión IV de I2S a una concentración de 0,5 mg/kg. Los datos sugieren que el perfil predicho después de la administración IV fue bien predicho por el modelo NC escalado. La Figura 8 ilustra la concentración sérica observada frente a la prevista: perfil de tiempo de I2S en pacientes pediátricos después de una única administración de 10 mg de IT-L. En la Figura 9 se muestran los datos de corrección de la diferencia de la relación entre el peso del cuerpo y el cerebro. Estos hallazgos muestran que la aplicación de la corrección de la relación cerebro/peso mejora la predicción. También se realizaron estudios para determinar las condiciones de muestreo y los puntos de tiempo óptimos para medir los parámetros farmacocinéticos en suero y LCR después de la administración de I2S (Figura 10).

[0153] Estos resultados demuestran que el enfoque de modelado descrito en el presente documento puede permitir una predicción precisa de las mediciones farmacológicas en sujetos humanos basándose en los datos obtenidos de primates no humanos. Estos resultados también sugieren que la administración de TI en sujetos humanos, en particular, los pediátricos pueden afectar la concentración de I2S tanto en suero como en CSF, y las concentraciones de suero y/o CSF I2S pueden usarse para monitorear y/o optimizar el tratamiento y la eficacia terapéutica.

Ejemplo 2: Evaluación de la tolerancia de una dosis de 100 mg y modelado de la concentración predictiva de I2S en suero y LCR.

[0154] Utilizando tanto los datos experimentales como los modelos farmacocinéticos obtenidos anteriormente, se realizaron cálculos para evaluar si una dosis mensual de 100 mg de Idursulfasa sería segura y/u ofrecería una eficacia adicional más allá de la dosis de 30 mg. Utilizando un modelo humano o un modelo alométrico, la exposición proyectada al plasma, incluidos los valores de C_{max} y AUC proyectados, se anticipa después de que se pueda extrapolar la administración mensual de Idursulfasa por 100 mg (figuras 11 y 12). Como tal, los datos sugieren que tal enfoque podría usarse para determinar la seguridad y la eficacia de una dosis mensual de 100 mg (o superior) de Idursulfasa. Además, sugiere que, dado el perfil farmacocinético proyectado, una dosis de 100 mg de IT podría administrarse de manera efectiva y segura a un paciente humano.

Ejemplo 3. Análisis farmacocinético de I2S administrado por vía intratecal

[0155] Estas propiedades farmacocinéticas (PK) en suero de una idursulfasa-IT (I2S humana recombinante para administración intratecal [IT]) se evaluaron en el estudio clínico de fase I/II diseñado para evaluar la seguridad y la eficacia de la administración de IT de la enzima de reemplazo I2S en pacientes humanos con síndrome de Hunter.

[0156] Los sujetos humanos diagnosticados previamente con Hunters síndrome se inscribieron en el estudio y fueron extraídos de una gama de grupos de edad con diferentes grados de gravedad de la enfermedad. En los ensayos clínicos se utilizó una forma purificada de la enzima lisosomal iduronato-2-sulfatasa producida por tecnología de ADN recombinante en una línea celular humana. Para el estudio, se implantó un dispositivo de administración de fármacos intratecal (IDDD) en el espacio intratecal que rodea el cordón espinal para cada sujeto. Dependiendo del grupo de estudio, una dosis mensual de 0, 1, 10 o 30 mg de Idursulfasa se administró por vía intratecal a través de IDDD en combinación con la administración IV. La dosis mensual se continuó hasta un período de 36 meses para determinar la tolerancia y la eficacia del fármaco. La formulación para administración intratecal utilizada en este estudio contiene I2S (50 mg/ml), cloruro de sodio (9 mg/ml) y polisorbato 20 (0,00005 ml/ml).

[0157] Para determinar el perfil farmacocinético de idursulfasa en muestras de suero recogidas de los pacientes pediátricos se establecieron dos brazos de investigación. El objetivo de este enfoque de dos brazos fue determinar el perfil PK de la idursulfasa en muestras de suero tomadas de pacientes pediátricos con síndrome de Hunter y con deterioro cognitivo que recibieron idursulfasa-IT por vía intratecal a intervalos mensuales junto con la administración IV de idursulfasa (3 horas 0,5 mg/kg de infusión) a intervalos semanales. El grupo de investigación inicial fue un estudio aleatorizado, multicéntrico, de dosis múltiples, retrasado en el tiempo, de escalamiento de dosis que evaluó la seguridad, la tolerabilidad y la actividad clínica de hasta 4 niveles de idursulfasa-IT administrados a través de un dispositivo de administración de fármacos intratecal (IDDD) mensualmente durante 6 meses junto con infusiones semanales intravenosas (IV) de I2S recombinante (0,5 mg/kg) en pacientes con síndrome de Hunter y que tienen deterioro cognitivo. A los pacientes que completaron todos los requisitos del estudio para el primer grupo se les permitió participar en un segundo estudio interino, que fue diseñado como una extensión abierta del estudio inicial, para evaluar la seguridad a largo plazo y los resultados clínicos de la idursulfasa-IT administrada, junto con la administración intravenosa de I2S en pacientes pediátricos con síndrome de Hunter y deterioro cognitivo.

[0158] Hubo cuatro pacientes por grupo de tratamiento inscritos en el grupo de investigación inicial. Un grupo adicional de 4 pacientes se asignó al azar a un tratamiento sin IT durante 6 meses (un grupo solo de IV dentro de los grupos de tratamiento de IT y IV). Los pacientes se inscribieron en el Grupo 1 (10 mg) y en el Grupo 2 (30 mg) de forma secuencial y progresiva. La inscripción en el Grupo 4 (1,0 mg) comenzó después de la inscripción en el Grupo 2. Debido al efecto favorable de la PD observada a 30 mg, la dosis de 100 mg planificada inicialmente no se implementó y en su lugar se implementó un grupo de dosis de 1 mg.

[0159] La duración del tratamiento idursulfasa-IT en el brazo inicial fue de 6 meses, con pacientes que recibieron 1 dosis de Idursulfasa-IT cada 28 días. Los pacientes que completaron todos los requisitos del estudio en el brazo inicial pasaron a participar en un estudio de extensión de etiqueta abierta para evaluar la seguridad a largo plazo y los resultados clínicos de la administración de TI de idursulfasa-IT. Los pacientes que recibieron idursulfasa-IT en el primer brazo recibieron el mismo régimen de tratamiento en el estudio de extensión y continuarán recibiendo tratamiento durante un máximo de 5 años.

[0160] Para el brazo inicial de investigación, los análisis farmacocinéticos de suero se llevaron a cabo en la semana 3 (después de la primera administración idursulfasa-IT) y en la semana 23 (después de la sexta administración idursulfasa-IT). Para aquellos pacientes que continuaron con el segundo brazo del estudio, también se realizó un análisis farmacocinético, pero al mes 19 y al mes 31. Durante las semanas de administración de TI, en el primer y segundo grupo de investigación, la dosis intravenosa se administra 2 días siguiendo la dosis de IT.

Muestra de sangre

[0161] La evaluación de los perfiles de concentración de idursulfasa en el tiempo del líquido cefalorraquídeo (LCR) es difícil debido al número limitado de colecciones de muestras de LCR clínicamente admisibles. Por lo tanto, aunque no fue posible determinar un perfil farmacocinético completo en el LCR, los niveles de idursulfasa se evaluaron indirectamente midiendo los perfiles sistémicos de concentración de idursulfasa sérica, tomados de la sangre. Las muestras de sangre se obtuvieron de pacientes que recibieron idursulfasa-IT o IV en las semanas 3 y 23

(grupo de 10 y 30 mg) y el mes 19 (grupo de 10 mg) y se analizaron. Todas las muestras de sangre para el análisis de PK se extrajeron de un vaso en el brazo opuesto a la infusión IV y se colocaron en tubos de recolección sin ningún anticoagulante y se dejaron coagular a temperatura ambiente. Las muestras de sangre se recogieron dentro de los 15 minutos previos a la administración de idursulfasa-IT (línea de base antes de la inyección o Tiempo 0) y a las 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 12 y 24 horas después de la administración de idursulfasa-IT. Los tiempos de muestreo se extendieron a 30 y 36 horas después de la administración de idursulfasa-IT en la semana 23 (grupo de 30 mg) y en el mes 19. Se recogieron muestras de sangre para la evaluación de PK IV en el transcurso de 15 minutos antes de la infusión intravenosa (línea de base previa a la infusión o tiempo 0), a las 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 y 3 horas durante la infusión; y a las 3,5, 4,5, 6, 7, 9, 11 y 24 horas después del inicio de la infusión IV.

Análisis de suero I2S

[0162] Se analizaron muestras de suero para análisis PK para la concentración de proteína usando métodos validados de ensayo inmunoabsorbente ligado a la enzima de idursulfasa (ELISA). El límite inferior de cuantificación (LLOQ) del método ELISA utilizado para medir las concentraciones séricas de idursulfasa después de la administración IV fue de 62,5 ng/mL. El LLOQ del ensayo utilizado para medir la idursulfasa sérica después de la administración de idursulfasa-IT fue de 6,25 ng/mL. Se utilizó un ensayo de proteína idursulfasa de mayor sensibilidad para las muestras de idursulfasa-IT con el fin de detectar y examinar las cantidades más bajas anticipadas de idursulfasa que entran en la circulación sistémica del compartimiento del SNC después de la administración de IT.

Análisis farmacocinético

[0163] Los parámetros farmacocinéticos para idursulfasa se determinaron mediante análisis no compartimental usando Phoenix Versión 6.1 (Pharsight Corporation, Mountain View, CA, EE.UU.). Los tiempos reales de recolección de muestras de sangre de PK en relación con el inicio de la administración de idursulfasa-IT se utilizaron en el análisis de PK. Para el análisis de PK de las concentraciones de idursulfasa sérica después del inicio de la infusión IV, se utilizaron los tiempos reales de infusión (aproximadamente 180 min) y los tiempos reales de muestreo. Los datos continuos se resumieron con las estadísticas descriptivas: número de observaciones, media, desviación estándar (DE), media geométrica, coeficiente de variación (% CV), valores medios, mínimos y máximos. Los datos categóricos se resumieron con frecuencias y/o porcentajes. Los parámetros farmacocinéticos calculados para cada muestra incluyeron: concentración sérica máxima observada (C_{max}), tiempo de C_{max} (T_{max}), área bajo la curva de concentración sérica-tiempo desde el momento cero hasta el último tiempo de muestreo en el que se midieron las concentraciones séricas ($AUC_{0-última}$), área bajo la curva de concentración-tiempo del suero extrapolada al infinito ($AUC_{0-\infty}$), exposición en estado estable para el intervalo de dosificación (AUC_{ss}), constante de velocidad terminal (λ_Z) derivada de la pendiente de la regresión log-lineal de la porción terminal log-lineal de la curva de concentración-tiempo del suero, vida media terminal ($t_{1/2}$) calculada como $0,693/\lambda_Z$, tiempo de residencia medio extrapolado hasta el infinito (MRT_{inf}); que se calcula como aclaramiento total (CL) $AUMC_{0-\infty}/AUMC_{0-\infty}$ calculado como volumen de distribución (V_{ss}) de dosis/ $AUMC_{0-\infty}$ calculado como $MRT_{inf} \cdot CL$ y la distribución de volumen (V_z) derivados de la eliminación fase.

I2S-IT e IV (Semana 3)

[0164] Los datos demuestran que a dosis de 10 y 30 mg, idursulfasa-IT exhibió perfiles de concentración-tiempo de suero Idursulfasa similares (Figura 13). La administración intratecal de idursulfasa-IT demostró una distribución lenta en el compartimiento sistémico, con una concentración máxima observada (T_{max}) para las dosis de idursulfasa-IT de 10 mg y 30 mg de $545,5 \pm 226,1$ minutos y $420 \pm 84,9$ minutos, respectivamente. En la semana 3 hubo un alto grado de variabilidad en los valores de C_{max} y $AUC_{0-último}$ de pacientes individuales en los grupos de idursulfasa-IT de 10 mg ($n = 4$) y 30 mg ($n = 2$), pero en general la exposición fue similar para los dos grupos de tratamiento. La C_{max} fue de $144,5 \pm 65,9$ ng/mL y $204,8 \pm 33$, ng/mL, y la $AUC_{0-última}$ fue de $140084,5 \pm 45590,1$ min·ng/mL y $190487,7 \pm 38569,0$ min·ng/mL para la idursulfasa de 10 y 30 mg - Grupos IT, respectivamente (Tabla 5). El IV $AUMC_{0-\infty}$ y la C_{max} para el grupo de idursulfasa-IT 10 mg en la semana 3 fue $469936,2 \pm 85471,3$ min·ng/mL y $1695,5 \pm 376,0$ ng/mL, respectivamente. El I2S IV $AUMC_{0-\infty}$ y C_{max} para el grupo idursulfasa-IT 30 mg en la semana 3 fue $553300,4 \pm 190671,0$ min·ng/mL y $2187,5 \pm 979,5$ ng/mL, respectivamente (Tabla 8).

I2S-IT e IV (Semana 23)

[0165] En la semana 23 los perfiles de PK de ambos grupos de dosis de idursulfasa-IT fueron similares a la Semana 3 (Figura 14). Idursulfasa-IT mostró una distribución lenta en el compartimiento sistémico, con una T_{max} de $570,8 \pm 181,5$ minutos y $450,5 \pm 60,3$ minutos, para las dosis de 10 mg y 30 mg respectivamente. Al igual que en la semana 3, en la semana 23 hubo un alto grado de variabilidad en los valores de C_{max} y $AUC_{0-último}$ de pacientes individuales en los grupos de 10 mg ($n = 4$) y 30 mg ($n = 4$) idursulfasa-IT y la exposición sistémica fue mayor para el grupo de 10 mg de idursulfasa-IT. La C_{max} fue de $150,4 \pm 50,2$ ng/mL y $95,1 \pm 59,3$ ng/mL, y el $AUC_{0-último}$ fue de $150529,0 \pm 43878,8$ min·ng/mL y $102278,3 \pm 105526,2$ min·ng/mL para los 10 mg y 30 mg de grupos de idursulfasa-IT, respectivamente (Tabla 6). En la semana 23, el I2S IV $AUMC_{0-\infty}$ y C_{max} para el grupo idursulfasa-IT 10 mg fue $483492,6 \pm 69182,3$ min·ng/mL y $1704,7 \pm 410,0$ ng/mL, respectivamente. El I2S IV $AUMC_{0-\infty}$ y C_{max} para el grupo

idursulfasa-IT 30 mg en la semana 23 fueron $546934,2 \pm 115402,7$ min·ng/mL y $2142,1 \pm 660,9$ ng/mL, respectivamente (Tabla 9).

I2S-IT e IV (Mes 19)

[0166] En el punto de tiempo Mes 19, el perfil de PK de idursulfasa-IT es similar al observado en la semana 3 y 23 (Figura 15). Las concentraciones séricas de idursulfasa tuvieron un T_{max} de $570,0 \pm 180,0$ minutos. La evaluación en el mes 19 muestra que la exposición sistémica a la dosis de 10 mg de idursulfasa-IT fue comparable a los valores observados en la semana 3 y en la semana 23. La C_{max} y el $AUC_{0\text{última}}$ fueron $96,4 \pm 44,3$ ng/mL y $124433,3 \pm 30757,6$ min·ng/mL, respectivamente (Tabla 7). La I2S administrada por vía intravenosa (0,5 mg/kg) exhibió perfiles de concentración de tiempo de idursulfasa sérica superpuestos (Figura 3), así como parámetros PK similares en la Semana 3 y en la Semana 23 (Tabla 9). En ambos periodos de tiempo, la C_{max} generalmente coincidió con el final de la infusión (3 horas).

Tabla 5. Parámetros de PK no compartimentales ejemplares de las concentraciones séricas de idursulfasa de pacientes en el primer brazo después de la administración de Idursulfasa-IT (Semana 3)

Paciente	$t_{1/2}$ (min)	T_{max} (min)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-1ast} (min·ng/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (min·ng/mL)	V_z (mL)	CL (mL/min)	MRT_{inf} (min)
10 mg								
045-013-0004	1308.2	250.0	134.1	147351.1	295976.6	63765.4	33.8	2018.5
045-013-0005	NC	725.0	91.2	100284.5	NC	NC	NC	NC
045-013-0011	NC	720.0	112.9	111243.9	NC	NC	NC	NC
045-013-0014	NC	487.0	239.9	201458.4	NC	NC	NC	NC
N	1	4	4	4	1	1	1	1
Media	1308.2	545.5	144.5	140084.5	295976.6	63765.4	33.8	2018.5
DE	NC	226.1	65.9	45590.1	NC	NC	NC	NC
CV%	NC	41.5	45.6	32.5	NC	NC	NC	NC
Mediana	1308.2	603.5	123.5	129297.5	295976.6	63765.4	33.8	2018.5
Min	1308.2	250.0	91.2	100284.5	295976.6	63765.4	33.8	2018.5
Max	1308.2	725.0	239.9	201458.4	295976.6	63765.4	33.8	2018.5
GeoMedia	1308.2	502.1	134.9	134900.1	295976.6	63765.4	33.8	2018.5
30 mg								
Patient								
045-013-0003	622.4	360.0	181.3	163215.3	217883.3	123639.1	137.7	1073.6
045-013-0006	NC	480.0	228.4	217760.1	NC	NC	NC	NC
N	1	2	2	2	1	1	1	1
Media	622.4	420.0	204.8	190487.7	217883.3	123639.1	137.7	1073.6
DE	NC	84.9	33.3	38569.0	NC	NC	NC	NC
CV%	NC	20.2	16.3	20.2	NC	NC	NC	NC
Mediana	622.4	420.0	204.8	190487.7	217883.3	123639.1	137.7	1073.6
Min	622.4	360.0	181.3	163215.3	217883.3	123639.1	137.7	1073.6
Max	622.4	480.0	228.4	217760.1	217883.3	123639.1	137.7	1073.6
GeoMedia	622.4	415.7	203.5	188525.3	217883.3	123639.1	137.7	1073.6
NC - no calculado debido a puntos de datos insuficientes								

Tabla 6. Parámetros de PK no compartimentales ejemplares de las concentraciones de idursulfasa en suero de pacientes en el primer brazo después de la administración de Idursulfasa-IT (Semana 23)

Paciente	$t_{1/2}$ (min)	T_{max} (min)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-last} (min·ng/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (min·ng/mL)	V_z (mL)	CL (mL/min)	MRT_{int} (min)
10 mg								
045-013-0004	1461.8	359.0	220.0	214132.4	434076.7	48585.1	23.0	2128.6
045-013-0005	NC	480.0	116.2	120864.6	NC	NC	NC	NC
045-013-0011	NC	724.0	154.1	145280.2	NC	NC	NC	NC
045-013-0014	NC	720.0	111.4	121839.0	NC	NC	NC	NC
N	1	4	4	4	1	1	1	1
Media	1461.8	570.8	150.4	150529.0	434076.7	48585.1	23.0	2128.6
DE	NC	181.5	50.2	43878.8	NC	NC	NC	NC
CV%	NC	31.8	33.3	29.1	NC	NC	NC	NC
Mediana	1461.8	600.0	135.1	133559.6	434076.7	48585.1	23.0	2128.6
Min	1461.8	359.0	111.4	120864.6	434076.7	48585.1	23.0	2128.6
Max	1461.8	724.0	220.0	214132.4	434076.7	48585.1	23.0	2128.6
Geo_{media}	1461.8	547.5	144.7	146299.7	434076.7	48585.1	23.0	2128.6
30 mg								
Patient								
045-013-0003	656.1	480.0	182.0	235827.9	274312.5	103513.1	109.4	1165.9
045-013-0006	3898.6	360.0	75.0	137590.2	474893.4	355313.4	63.2	5841.3
045-014-1007	NC	482.0	48.4	12024.5	NC	NC	NC	NC
045-014-1009	NC	480.0	75.1	23670.5	NC	NC	NC	NC
N	2	4	4	4	2	2	2	2
Media	2277.3	450.5	95.1	102278.3	374602.9	229413.2	86.3	3503.6
DE	2292.8	60.3	59.3	105526.2	141832.1	178049.7	32.7	3306.0
CV%	100.7	13.4	62.3	103.2	37.9	77.6	37.9	94.4
Mediana	2277.3	480.0	75.1	80630.3	374602.9	229413.2	86.3	3503.6
Min	656.1	360.0	48.4	12024.5	274312.5	103513.1	63.2	1165.9
Max	3898.6	482.0	182.0	235827.9	474893.4	355313.4	109.4	5841.3
Geo_{media}	1599.3	447.2	83.9	55127.0	360928.2	191780.1	83.1	2609.7
NC - no calculado debido a puntos de datos insuficientes								

Tabla 7. Parámetros PK no compartimentales ejemplares de las concentraciones de idursulfasa en suero de pacientes en el segundo brazo después de la administración de Idursulfasa-IT (mes 19)

	$t_{1/2}$ (min)	T_{max} (min)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-last} (min·ng/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (min·ng/mL)	V_z (mL)	CL (mL/min)	MRT_{inf} (min)
Paciente	10 mg							
046-013-0004	NC	480.0	159.1	166524.2	NC	NC	NC	NC
046-013-0005	1413.3	360.0	94.6	119038.8	190710.6	106917.3	52.4	2183.7
046-013-0011	1092.2	720.0	58.8	92593.8	135247.7	116503.9	73.9	1860.3
046-013-0014	1162.1	720.0	73.1	119576.3	180115.5	93080.3	55.5	1969.6
N	3	4	4	4	3	3	3	3
Media	1222.5	570.0	96.4	124433.3	168691.3	105500.5	60.6	2004.5
DE	168.9	180.0	44.3	30757.6	29443.5	11775.9	11.6	164.5
CV%	13.8	31.6	46.0	24.7	17.5	11.2	19.2	8.2
Mediana	1162.1	600.0	83.8	119307.6	180115.5	106917.3	55.5	1969.6
Min	1092.2	360.0	58.8	92593.8	135247.7	93080.3	52.4	1860.3
Max	1413.3	720.0	159.1	166524.2	190710.6	116503.9	73.9	2183.7
Geo-media	1215.0	547.1	89.7	121716.2	166859.9	105054.7	59.9	2000.1
NC - no calculado debido a puntos de datos insuficientes								

Tabla 8. Parámetros PK no compartimentales ejemplares de las concentraciones de idursulfasa en suero de pacientes en el primer brazo luego de la administración de I2S IV recombinante (semana 3)

Paciente		Eliaprasa IV (0,5 mg/kg) en 10 mg de brazo de dosificación idursulfasa-IT									
045-013-0004	769.4	150.0	1211.6	292786.7	362161.9	1532.5	1.38	769.0	1061.7		
045-013-0005	612.8	150.0	1642.8	415675.4	470928.8	938.6	1.06	559.2	593.7		
045-013-0011	688.2	152.0	1816.7	413324.4	475376.1	1044.3	1.05	582.6	612.7		
045-013-0014	357.5	180.0	2110.9	535739.4	571277.9	451.4	0.88	435.6	381.2		
N		4	4	4	4	4	4	4	4		
Media		607.0	158.0	1695.5	414381.4	469936.2	991.7	1.1	586.6	662.3	
SD		178.2	14.7	376.0	99189.8	85471.3	443.4	0.2	137.6	286.1	
CV%		29.4	9.3	22.2	23.9	18.2	44.7	19.3	23.5	43.2	
Mediana		650.5	151.0	1729.8	414499.9	473152.4	991.4	1.1	570.9	603.2	
Min		357.5	150.0	1211.6	292786.7	362161.9	451.4	0.9	435.6	381.2	
Max		769.4	180.0	2110.9	535739.4	571277.9	1532.5	1.4	769.0	1061.7	
Media geométrica		583.6	157.5	1662.2	405170.2	463912.1	907.5	1.1	574.7	619.5	
Patient		Eliaprasa IV (0,5 mg/kg) en 30 mg de brazo de dosificación idursulfasa-IT									
045-013-0003	719.7	180.0	1739.4	454701.0	519597.0	999.2	0.96	589.0	566.8		
045-013-0006	637.9	120.0	3310.9	672529.5	758575.8	606.6	0.66	557.4	367.4		
045-014-1009	511.4	182.0	1512.1	335613.3	381728.3	966.4	1.31	544.2	712.8		
N		3	3	3	3	3	3	3	3		
Media		623.0	160.7	2187.5	487614.6	553300.4	857.4	1.0	563.6	549.0	
SD		104.9	35.2	979.5	170852.6	190671.0	217.8	0.3	23.0	173.4	
CV%		16.8	21.9	44.8	35.0	34.5	25.4	33.3	4.1	31.6	
Mediana		637.9	180.0	1739.4	454701.0	519597.0	966.4	1.0	557.4	566.8	
Min		511.4	120.0	1512.1	335613.3	381728.3	606.6	0.7	544.2	367.4	
Max		719.7	182.0	3310.9	672529.5	758575.8	999.2	1.3	589.0	712.8	
Media geométrica		616.9	157.8	2057.4	468193.6	531871.4	836.7	0.9	563.2	529.5	

Tabla 9. Parámetros de PK no compartimentales ejemplares de las concentraciones de idursulfasa en suero de pacientes en el primer estudio posterior a la administración de I2S IV recombinante (semana 23)

Paciente	$t_{1/2}$ (min)	T_{max} (min)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24} (min·ng/mL)	AUC_{0-24} (min·ng/mL)	V_z (mL)	CL (mL/min)	MRT _{inf} (min)	V_{ss} (mL/kg)
Elaprasa IV (0,5 mg/kg) en 10 mg de brazo de dosificación idursulfasa-IT									
045-013-0004	904.3	122.0	1448.3	386358.5	487860.2	1337.1	1.02	858.4	879.8
045-013-0005	848.6	150.0	1324.3	312708.6	389225.1	1572.7	1.28	800.2	1027.9
045-013-0011	576.4	150.0	1809.5	449898.1	501870.5	828.5	1.00	539.8	537.7
045-013-0014	605.4	181.0	2236.5	500429.9	555014.6	786.8	0.90	525.2	473.1
N	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Media	733.7	150.8	1704.7	412348.8	483492.6	1131.3	1.1	680.9	729.6
SD	166.9	24.1	410.0	81182.7	69182.3	386.3	0.2	173.1	267.2
CV%	22.7	16.0	24.1	19.7	14.3	34.1	15.6	25.4	36.6
Mediana	727.0	150.0	1628.9	418128.3	494865.3	1082.8	1.0	670.0	708.8
Min	576.4	122.0	1324.3	312708.6	389225.1	786.8	0.9	525.2	473.1
Max	904.3	181.0	2236.5	500429.9	555014.6	1572.7	1.3	858.4	1027.9
Media geométrica	719.3	149.3	1659.1	406113.0	4795657.7	1082.0	1.0	664.3	692.6
Elaprasa IV (0,5 mg/kg) en 30 mg de brazo de dosificación idursulfasa-IT									
045-013-0003	1057.0	152.0	1452.7	330584.3	425895.3	1790.3	1.17	928.9	1090.5
045-013-0006	619.0	187.0	2770.1	588480.6	655723.4	680.9	0.76	531.4	405.2
045-014-1007	86.1	210.0	2203.7	507196.8	559184.0	111.1	0.89	226.2	202.3
N	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Media	587.4	183.0	2142.1	475420.6	546934.2	860.8	0.9	562.2	566.0
SD	486.2	29.2	660.9	131851.9	115402.7	853.9	0.2	352.4	465.5
CV%	82.8	16.0	30.9	27.7	21.1	99.2	22.3	62.7	82.2
Mediana	619.0	187.0	2203.7	507196.8	559184.0	680.9	0.9	531.4	405.2
Min	86.1	152.0	1452.7	330584.3	425895.3	111.1	0.8	226.2	202.3
Max	1057.0	210.0	2770.1	588480.6	655723.4	1790.3	1.2	928.9	1090.5
Media geométrica	383.3	181.4	2059.8	462094.0	538508.8	513.5	0.9	481.5	447.1

Biodisponibilidad de Idursulfasa-IT después de la administración de IT

[0167] La biodisponibilidad sistémica de idursulfasa-IT después de la administración intratecal se calculó en un subconjunto de pacientes que tenía valores medibles AUMC_{0-∞} (n = 6; Tabla 10). Se observó un alto grado de variabilidad entre pacientes en los grupos de dosis de 10 y 30 mg de idursulfasa-IT. El porcentaje medio de biodisponibilidad para los grupos de 10 mg y 30 mg de idursulfasa-IT fue de 53,2 (rango de 29,9 a 88,0%) y 38,4 (rango de 24,4 a 59,2%), respectivamente. La biodisponibilidad promedio de idursulfasa-IT en ambos grupos de dosis fue de $47,7 \pm 20,8\%$.

[0168] Por lo tanto, después de las dosis de 10 y 30 mg de IT, las concentraciones séricas de idursulfasa aumentaron lentamente, lo que indica que hubo poca o ninguna pérdida de la idursulfasa inyectada por vía intratecal y no hay distribución directa en la circulación sistémica. Sin desear estar limitado por un estudio en particular, un posible mecanismo es que la idursulfasa se elimine del LCR a través de las vellosidades aracnoideas. Los materiales atraviesan las vellosidades por micro pinocitosis, que es un proceso unidireccional que media el transporte desde el LCR al sistema venoso o al espacio epidural.

[0169] Los hallazgos también sugieren que, durante el primer brazo (semanas 0 a 23) del estudio, las dosis de 10 mg y 30 mg de idursulfasa-IT en la semana 3 y en la semana 23 exhibieron perfiles de concentración de tiempo de idursulfasa sérica casi superpuestos. La biodisponibilidad sistémica promedio de idursulfasa-IT después de las dosis de IT de 10 y 30 mg fue aproximadamente 48% (rango 24-88%). No se observó la proporcionalidad de la dosis de la exposición a la idursulfasa sérica entre estas dos dosis de idursulfasa, con respecto a la $C_{\max}$ o AUC_{0última}, lo que sugiere que la saturación del mecanismo o mecanismos de transferencia del SNC al compartimiento sistémico se logra a una dosis de IT menos que o igual a 10 mg.

Perfil de seguridad

[0170] Nueve de los 12 pacientes tratados (3 de 4 pacientes en cada grupo de dosis de IT) informaron al menos un evento adverso que se evaluó como relacionado con idursulfasa-IT. Sin embargo, no se consideraron eventos adversos graves relacionados con la idursulfasa-IT. No hubo muertes durante el estudio, y ningún paciente experimentó un evento adverso que amenazara su vida o se discontinuó debido a un evento adverso. En conjunto, los datos clínicos confirman que la administración de IT de la enzima I2S recombinante fue segura y bien tolerada.

Ejemplo 4: La administración intratecal de I2S recombinante reduce los niveles de GAG en el líquido cefalorraquídeo

[0171] La MPSII (síndrome de Hunter), en su forma grave, se caracteriza por el aumento de la acumulación de GAG en los tejidos del cuerpo. El diagnóstico del síndrome de Hunter se correlaciona con la aparición de retrasos progresivos en el desarrollo, especialmente en pacientes adolescentes. Una prueba de seguridad de Fase I/II de reemplazo de enzima intratecal con idursulfasa-IT usando una formulación de idursulfasa, se ha completado recientemente para pacientes diagnosticados con síndrome de Hunter y que sufren de deterioro cognitivo grave. Como se describe en el Ejemplo 3, dieciséis niños con MPSII y deterioro cognitivo se inscribieron en 4 grupos de dosis (sin tratamiento, 1 mg, 10 mg, 30 mg). Idursulfasa-IT se administró mensualmente durante 6 meses consecutivos como un bolo lento a través de un dispositivo de administración de fármacos intratecal o mediante punción lumbar, junto con una infusión intravenosa semanal (0,5 mg/kg). Idursulfasa-IT fue generalmente bien tolerada. No hubo signos de inflamación meníngea debido al contacto con idursulfasa-IT.

[0172] Los niveles de glicosaminoglicanos (GAGs) en el líquido cefalorraquídeo (LCR) se midieron usando un ensayo enzimático. Los niveles de GAG se midieron durante la selección, durante la cirugía del implante, en cada administración de dosis mensual y al final del estudio. Como se demuestra en las Figuras 16-18, antes del inicio de la terapia de reemplazo enzimático, todos los pacientes tenían niveles de GAG de LCR que estaban significativamente elevados sobre los niveles observados en voluntarios adultos sanos o controles pediátricos. En los pacientes no tratados, los niveles se mantuvieron estables durante un período de 6 meses. La administración de idursulfasa-IT indujo una reducción de los niveles de GAG en LCR en todos los pacientes tratados (Figuras 16-18). Además, los hallazgos sugieren que los niveles estables de I2S se alcanzaron normalmente después de 2 o 3 inyecciones para el tratamiento con 10 y 30 mg de idursulfasa-IT (Figura 19). No se observó un rebote de los niveles de GAG en LCR cuando se omitió una dosis (no se muestran los datos).

[0173] Estos datos indican que la idursulfasa-IT fue farmacodinámicamente activa cuando se administró en el LCR de niños con MPSII y puede reducir efectivamente los niveles de GAG en el LCR.

Ejemplo 5: La administración intratecal de I2S recombinante mejora el rendimiento cognitivo

[0174] Este ejemplo demuestra que la administración intratecal de la enzima I2S recombinante mejora el rendimiento cognitivo en pacientes diagnosticados con síndrome de Hunter y que sufren un deterioro cognitivo grave según los datos de un ensayo de seguridad de Fase I/II de reemplazo enzimático intratecal con idursulfasa-IT (véase Ejemplo 3).

[0175] No se espera que la terapia de reemplazo de enzima intravenosa con idursulfasa recombinante para afectar el deterioro cognitivo debido a la impenetrabilidad de la barrera sangre-cerebro a proteínas grandes. Para el estudio, 4 pacientes recibieron 1, 10 o 30 mg de idursulfasa-IT cada mes, con exposiciones entre 6 y 35 meses, y 4 niños adicionales no recibieron tratamiento durante 6 meses y luego fueron cambiados a terapia activa. El fármaco se administró a través de un dispositivo de suministro de fármacos intratecal o mediante punción lumbar. De los 16 pacientes, la mayoría tenía enfermedad neurodegenerativa avanzada al momento de la inscripción, lo que hacía imposible realizar evaluaciones cognitivas y funcionales detalladas. No se han observado eventos adversos graves relacionados con la idursulfasa-IT hasta la fecha.

Capacidad conceptual general (ACG) evaluada por DAS-II

[0176] Las pruebas de desarrollo neurológico de niños con MPS II típicamente muestran resultados normales durante los primeros 2 a 3 años de vida; sin embargo, alrededor de los 3 a 4 años de edad, aquellos niños que manifestarán un retraso en el desarrollo comienzan a desviarse de la trayectoria normal de desarrollo y disminuyen rápidamente en el transcurso de unos pocos años, generalmente entre los 3 y 9 años de edad. El patrocinador ha recopilado datos longitudinales utilizando el DAS-II, en ausencia de tratamiento con idursulfasa-IT, en pacientes con MPS II con evidencia de deterioro cognitivo. Estos datos se recopilaron en un estudio de detección no intervencionista en pacientes con MPS II y en el período anterior al tratamiento en este primer estudio en humanos. Los datos sugieren una disminución anual de 13 a 14 puntos en la Capacidad Conceptual General (ACG) de los pacientes. La puntuación GCA tiene un promedio de 100 puntos y una desviación estándar de 15 puntos en niños sanos; por lo tanto, una disminución anual de 13 a 14 puntos representa un grave deterioro. Estos datos se alinean con otros datos recopilados prospectivamente en la literatura publicada.

[0177] En esta fase I/II del estudio, la actividad clínica de la administración intratecal idursulfasa-IT, junto con la terapia IV, sobre el estado del desarrollo neurológico del paciente se evaluó más de 6 meses usando medidas estandarizadas de la función cognitiva, adaptativa, motora, y ejecutiva para uso apropiado en niños con síndrome de Hunter. Después de completar las evaluaciones de referencia, 7 de 12 pacientes tratados con idursulfasa-IT no pudieron ensayarse en serie utilizando el instrumento DAS-II para medir su función neurocognitiva a lo largo del tiempo. El hecho de que estos pacientes carecieran de la función neurocognitiva suficiente para completar las evaluaciones en serie se debió en gran parte a los criterios de inclusión del estudio que permitieron el reclutamiento de pacientes gravemente afectados con deterioro neurocognitivo establecido, y fue una consecuencia de que el estudio fue diseñado principalmente para la evaluación de la seguridad, en lugar de la eficacia. De los 4 pacientes en el brazo sin tratamiento, 3 pacientes no fueron analizables utilizando el DAS-II al final de los 6 meses, y el evaluador no estuvo disponible en la visita de final del estudio para evaluación de 1 de los pacientes no tratados.

[0178] Las evaluaciones longitudinales utilizando la versión 2ª prueba (DAS-II) de Habilidades Diferenciales se obtuvieron en 5 pacientes, con tiempos de seguimiento que varían de 6 meses a 24 meses. Cuatro de estos pacientes, que recibieron 10 o 30 mg de idursulfasa-IT, mostraron una puntuación estándar de Habilidad Conceptual General estable o superior en el DAS-II. En particular, un niño con antecedentes familiares de síndrome de Hunter grave mantuvo su puntuación hasta 2 años después del inicio de la terapia de reemplazo enzimático intratecal.

[0179] Un resumen de los resultados ejemplares de pruebas neurocognitivas se presenta en la Tabla 10. Los datos incluyen tanto la puntuación de capacidad conceptual general (GCA), según lo medido por el DAS-II y el Cociente de desarrollo (DQ), medido por el BSID-III. La principal prueba cognitiva utilizada durante el estudio fue la DAS-II; El BSID-III fue una medida alternativa para su uso en niños más gravemente afectados. Cada evaluación cognitiva se inició con un intento de realizar el DAS-II; sin embargo, si el niño fallaba incluso en las preguntas más simples del DAS-II, se utilizó el BSID como alternativa.

[0180] Como se muestra en la Tabla 10, de los 5 pacientes que podrían ser evaluados en serie por el DAS-II, 3 mostraron evidencia de la estabilización de la capacidad neurocognitiva después de 6 meses de tratamiento con idursulfasa-IT a las dosis de 10 mg o 30 mg. Un cuarto paciente (con 10 mg) mostró resultados variables durante el estudio, y el quinto paciente que recibió 1 mg experimentó un deterioro cognitivo durante los 6 meses de duración del estudio.

Tabla 10. Resumen de los resultados de las pruebas neurocognitivas (DAS-II GCA o BSID-III DQ)

Número de paciente	Dosis	Línea base ^a	Semana 3 ^b	Semana 15	Semana 27	Comentarios de examinador
045-013-0004	10 mg	MD	74	63	79	DAS-II
045-013-0011	10 mg	47	33	41	36	DAS-II Difícil de ensayar
045-013-0005	10 mg	46	MD	MD	MD	DAS-II No ensayable
045-013-0014	10 mg	70	69	79	76	DAS-II Estabilizado, bien
045-013-0006	30 mg	41	MD	MD	MD	DAS-II No ensayable
045-013-0003	30 mg	59	63	54	62	DAS-II Estabilización después de declive documentado
045-014-1009	30 mg	43 (DQ)	40 (DQ)	MD	44 (DQ)	BSID-III
045-014-1007	30 mg	22 (DQ)	13 (DQ)	19 (DQ)	MD	BSID-III
045-013-0017	1 mg	66	50	45	41	DAS-II Severamente afectado
045-014-1008	1 mg	47 (DQ)	49 (DQ)	46 (DQ)	43 (DQ)	BSID-III
045-014-1006	1 mg	16 (DQ)	15 (DQ)	MD	12 (DQ)	BSID-III
045-013-0024	1 mg	MD	MD	MD	MD	No ensayable
045-013-0007	Sin tratamiento	49	MD	NA	MD	No ensayable
045-013-0019	Sin tratamiento	34	32	NA	MD	Evaluador no disponible en la visita de fin de estudio
045-013-0021	Sin tratamiento	MD	MD	NA	MD	No ensayable
045-014-1001	Sin tratamiento	19	MD	NA	MD	No ensayable

^aLínea de base es la medida de detección más cercana antes de la fecha de asignación al azar.
^bPara los pacientes tratados, la evaluación se realizó después de la implantación del dispositivo, pero antes de la primera dosis de idursulfasa-IT.
 Abreviaturas: DQ = cociente de desarrollo; MD = datos faltantes, no se intentó la prueba o el niño no pudo cooperar; NA = No aplicable.

[0181] Varios niños en el estudio no pudieron someterse a una evaluación cognitiva en absoluto, o solo se pudieron evaluar utilizando el BSID-III (Tabla 10).

[0182] Varios pacientes también mostraron evidencia de la estabilización o mejora en adaptativo (evaluado usando el instrumento SIB-R) y los comportamientos de función ejecutiva (evaluado mediante BRIEF) después de recibir 6 meses de tratamiento con idursulfasa-IT.

[0183] Se espera que una demostración clara de beneficio clínico de la terapia intratecal idursulfasa-IT en la preservación de la función del desarrollo neurológico puede ser más evidente con la larga duración del tratamiento en los pacientes que comienzan la terapia temprana de TI en la trayectoria de descenso del neurodesarrollo.

Independencia amplia evaluada por el SIB-R

[0184] Una evaluación de Broad Independencia (BI) se midió en el tiempo utilizando la Escala de Comportamiento Independiente-Revisado (SIB-R). La puntuación de independencia general se deriva como una puntuación de coeficiente intelectual, con un promedio de población de 100 y una desviación estándar de 15. En la tabla 11 se muestran resultados ejemplares. Después del tratamiento, se observó una mejora en las puntuaciones de independencia amplia en varios pacientes.

[0185] Las gráficas de pacientes individuales por edad cronológica de otros subdominios de conductas adaptativas que comprenden el SIB-R (por ejemplo, habilidades motoras, habilidades de interacción social/comunicación, habilidades de vida personal, habilidades de vida en la comunidad) fueron generalmente similares a las habilidades de independencia amplia (datos no mostrados).

Tabla 11. Resumen de los resultados de las pruebas de desarrollo neurológico (SIB-R BI)

Número de paciente	Dosis	Línea base ^a	Semana 3 ^b	Semana 15	Semana 27	Comentarios examinador	de
045-013-0004	10 mg	68	77	MD	93		
045-013-0011	10 mg	52	24	24	18		
045-013-0005	10 mg	38	54	33	30		
045-013-0014	10 mg	58	54	70	70		
045-013-0006	30 mg	29	18	21	13		
045-013-0003	30 mg	53	53	50	50		
045-014-1009	30 mg	17	17	MD	23		
045-014-1007	30 mg	14	ND	ND	1		
045-013-0017	1 mg	56	59	MD	44		
045-014-1008	1 mg	61	63	52	52		
045-014-1006	1 mg	11	14	ND	14		
045-013-0024	1 mg	40	MD	15	ND		
045-013-0007	Sin tratamiento	MD	MD	NA	MD	Limitaciones cognitivas del paciente	
045-013-0019	Sin tratamiento	MD	34	NA	32		
045-013-0021	Sin tratamiento	ND	ND	NA	ND		
045-014-1001	Sin tratamiento	MD	MD	NA	MD		
^a Línea de base es la medida de detección más cercana antes de la fecha de asignación al azar. ^b Para los pacientes tratados, la evaluación se realizó después de la implantación del dispositivo, pero antes de la primera dosis de idursulfasa-IT. Abreviaturas: BI = independencia ancha; MD = datos faltantes, no se intentó la prueba o el niño no pudo cooperar; NA = No aplicable. ND = número no derivable							

[0186] Para entender si había una relación entre los cambios cognitivos y los aspectos de comportamiento de la vida diaria, los coeficientes de correlación se calcularon entre la Habilidad Conceptual General DAS-II y la Puntuación de Independencia General del SIB-R, así como los subdominios (véase tabla 12).

Tabla 12. Resumen de las correlaciones entre las pruebas cognitivas seleccionadas - Población ITT

Parámetro 1	Parámetro 2	Coefficiente de correlación
DAS-II GCA puntuaciones estándar	DAS-II SNC Puntuaciones estándar	0,9482
DAS-II GCA puntuaciones estándar	SIB-R Amplias puntuaciones estándar de independencia	0,8087
DAS-II GCA puntuaciones estándar	SIB-R Puntuaciones estándar de habilidades de vida	0,5081
DAS-II GCA puntuaciones estándar	SIB-R Puntuaciones estándar personales de habilidades de vida en la comunidad	0,7473
DAS-II GCA puntuaciones estándar	SIB-R Puntuaciones estándar de habilidades de comunicación/interacción social	0,7060
DAS-II GCA puntuaciones estándar	SIB-R Puntuaciones estándar de habilidades motoras	0,5467
Nota: Se utilizaron modelos mixtos para tener en cuenta las mediciones repetidas.		

[0187] Como puede verse en la Tabla 12, las puntuaciones estándar DAS-II GCA y SIB-R BI estaban bien correlacionadas ($r = 0,8087$), y buenas correlaciones también se observaron entre las GCA y puntuaciones estándar para otros subdominios SIB-R que, colectivamente, miden la capacidad de un niño para funcionar de manera independiente. Estas correlaciones también sugieren que las mejoras cognitivas observadas tienen un valor más que académico y se traducen verdaderamente como una medida de mejora en la capacidad del niño para funcionar de manera independiente. Estos altos números de correlación constituyen un aspecto importante de la validación del DAS-II como medida clínicamente relevante en la población MPS II.

[0188] En conjunto, estos datos demuestran que la administración intratecal de enzima I2S recombinante puede tratar efectivamente el deterioro cognitivo en pacientes con síndrome de Hunter. Se espera que una mayor duración del tratamiento y/o una intervención temprana en la trayectoria del deterioro del desarrollo neurológico con

idursulfasa-IT puedan ser particularmente útiles para mejorar el rendimiento cognitivo, por ejemplo, al estabilizar o aumentar la puntuación DAS-II en niños con deterioro cognitivo debido al síndrome de Hunter.

[0189] Mientras que ciertos compuestos, composiciones y métodos descritos en el presente documento se han descrito con especificidad de acuerdo con ciertas realizaciones, los siguientes ejemplos sirven solamente para ilustrar los compuestos de la invención y no están destinados a limitar los mismos.

[0190] Los artículos "un" y "una" como se utilizan aquí en la especificación y en las reivindicaciones, a menos que se indique claramente lo contrario, debe entenderse para incluir los referentes plurales. Las reivindicaciones o descripciones que incluyen "o" entre uno o más miembros de un grupo se consideran satisfechas si uno, más de uno, o todos los miembros del grupo están presentes, empleados o, de lo contrario, relevantes para un producto o proceso determinado, a menos que se indique lo contrario o evidentes de otro modo por el contexto. La invención incluye realizaciones en las que exactamente un miembro del grupo está presente, empleado o de otro modo relevante para un producto o proceso dado. La invención también incluye realizaciones en las que más de uno, o todos los miembros del grupo están presentes, empleados en, o de otro modo relevantes para un producto o proceso dado. Además, debe entenderse que la invención abarca todas las variaciones, combinaciones y permutaciones en las que se presentan una o más limitaciones, elementos, cláusulas, términos descriptivos, etc., de una o más de las reivindicaciones enumeradas en otra reivindicación que dependa de la misma reivindicación de base (o, según corresponda, cualquier otra reclamación) a menos que se indique lo contrario o que sea evidente para un experto en la técnica que surgiría una contradicción o inconsistencia. Cuando los elementos se presentan como listas (por ejemplo, en el grupo de Markush o en un formato similar), debe entenderse que cada subgrupo de los elementos también se revela, y cualquier elemento puede ser eliminado del grupo. Debe entenderse que, en general, cuando se hace referencia a la invención, o aspectos de la invención, que comprenden elementos, características, etc. particulares, ciertas realizaciones de la invención o aspectos de la invención consisten, o consisten esencialmente en, tales elementos, características, etc. Para fines de simplicidad, esas realizaciones no se han expresado específicamente en todos los casos en tantas palabras en este documento. También debe entenderse que cualquier realización o aspecto de la invención se puede excluir explícitamente de las reivindicaciones, independientemente de si la exclusión específica se menciona en la memoria descriptiva.

REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Una enzima iduronato-2-sulfatasa (I2S) recombinante para uso en un método para tratar el Síndrome de Hunter en un paciente humano, en donde la enzima I2S recombinante se administra por vía intratecal a un sujeto que necesita tratamiento con una dosis terapéuticamente efectiva de 10 mg o 30 mg y un intervalo de administración mensual durante un período de tratamiento suficiente para (i) mejorar, estabilizar o reducir la disminución de una o más funciones cognitivas, adaptativas, motoras y/o ejecutivas en relación con un control, o (ii) disminuir el glicosaminoglicano (GAG) Nivel en el líquido cefalorraquídeo (LCR) en relación con un control.
- 10 **2.** La enzima I2S recombinante para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la administración intratecal se realiza mediante punción lumbar o mediante acceso intermitente o continuo a un dispositivo de administración intratecal de fármacos implantado (IDDD).
- 15 **3.** La enzima I2S recombinante para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el período de tratamiento es de 6 meses o 24 meses.
- 20 **4.** La enzima I2S recombinante para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que una o más funciones cognitivas, adaptativas, motoras y/o ejecutivas se evalúan mediante las Escalas de Habilidad Diferencial-Segunda Edición (DAS-II), opcionalmente en donde la evaluación DAS-II se realiza mediante una puntuación bruta, una puntuación de grupo, una puntuación estandarizada, un percentil de edad equivalente o un cociente de desarrollo, opcionalmente en la que la evaluación DAS-II se realiza mediante una puntuación de capacidad conceptual general (ACG),
opcionalmente, en donde la administración intratecal de la enzima I2S recombinante da como resultado:
 - 25 (i) una puntuación GCA mejorada en relación con el control, o
 - (ii) estabilización de la puntuación GCA en relación con el control.
- 30 **5.** La enzima I2S recombinante para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la administración intratecal de la enzima I2S recombinante da como resultado una mejora o estabilización de una o más funciones adaptativas evaluadas por (i) las escalas de comportamiento independiente revisado (SIB-R) y/o (ii) el Inventario de Calificación de Comportamiento de la Función Ejecutiva (BRIEF).
- 35 **6.** La enzima I2S recombinante para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el control es indicativo de (i) una o más funciones cognitivas, adaptativas, motoras y/o ejecutivas en el sujeto antes del tratamiento, o (ii) una o más funciones cognitivas, adaptativas, motoras y/o ejecutivas en un sujeto control con la misma enfermedad y estado de desarrollo sin tratamiento, o (iii) el nivel de GAG en el LCR del sujeto antes del tratamiento.
- 40 **7.** La enzima I2S recombinante para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la administración intratecal se realiza junto con la administración intravenosa de la enzima I2S recombinante, opcionalmente en la que la administración intravenosa de la enzima I2S recombinante es de una dosis de aproximadamente 0,5 mg/kg de peso corporal.
- 45 **8.** La enzima I2S recombinante para uso de acuerdo con la reivindicación 10, en donde el método comprende además una etapa de ajuste de la dosis y/o el intervalo de administración para administración intratecal y/o intravenosa basada en (a) la ACG, y/o la puntuación SIB-R, opcionalmente, en donde la etapa de ajuste comprende aumentar la dosis terapéutica efectiva para la administración intratecal basada en una disminución de la puntuación de GCA con respecto al control o (b) el nivel de GAG en el LCR.
- 50 **9.** La enzima I2S recombinante para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la administración intratecal no produce efectos adversos graves en el sujeto y/o no requiere un inmunosupresor.
- 55 **10.** La enzima I2S recombinante se debe a una de las reivindicaciones anteriores, en la que se presenta un deterioro cognitivo-subjetivo.

60

65

Modelos estructurales enlazados finales para I2S en suero y CSF

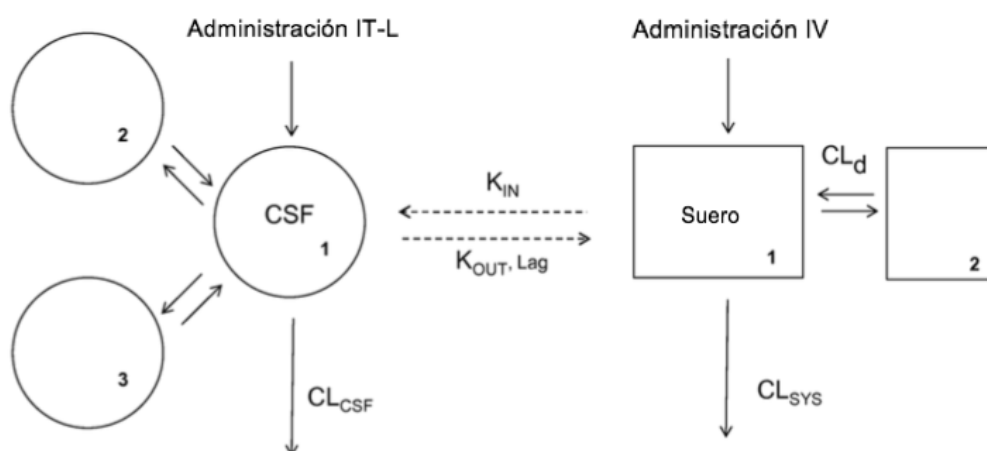
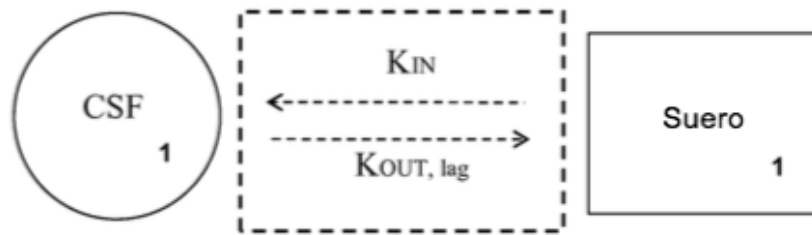


Fig. 1

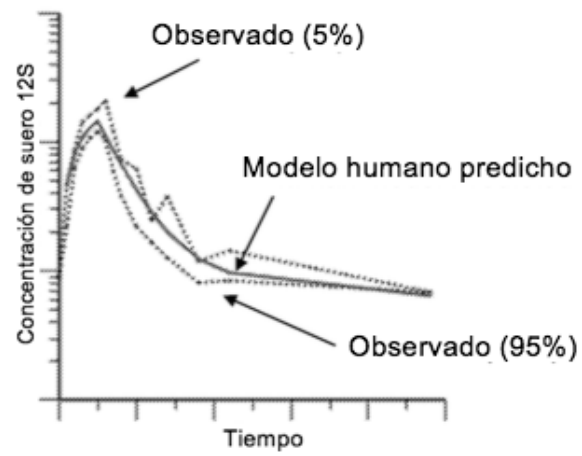
Transferencia intercompartmental entre CSF y suero



Parámetro	Estimación	%BSV
K_{IN} (1/h)	NA	NA
K_{OUT} (1/h)	0,229	NA
Lag (h)	0,405	NA
F(%) (CSF a SYS)	42,7	NA

Fig. 2

Modelo humano 2-comp para I2S en suero tras IV



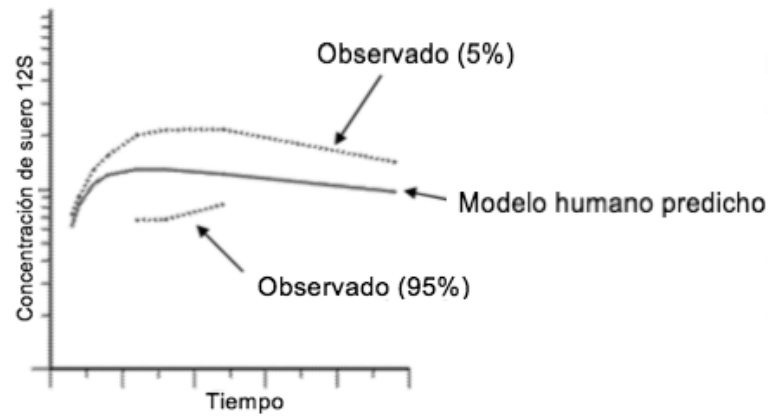
Parámetros en suero

Parámetro	Predicho	Real	%PE
VSYS (mL)	749	16020	0.05
CLSYS (mL/h)	678	4577	0.15

Subraya la naturaleza conservadora de escalación alométrica

Fig. 3

Modelo humano 2-comp para I2S en suero tras IT-L



Parámetros en suero

Parámetro	Predicho *	Real	%PE
Ka (1/h)	0.043	0.039	1.1
F	10.7	>100	0.1
Lag	0.065	0.48	0.14

* Corregido con respecto a la diferencia en relación de peso de cerebro/cuerpo

Fig. 4

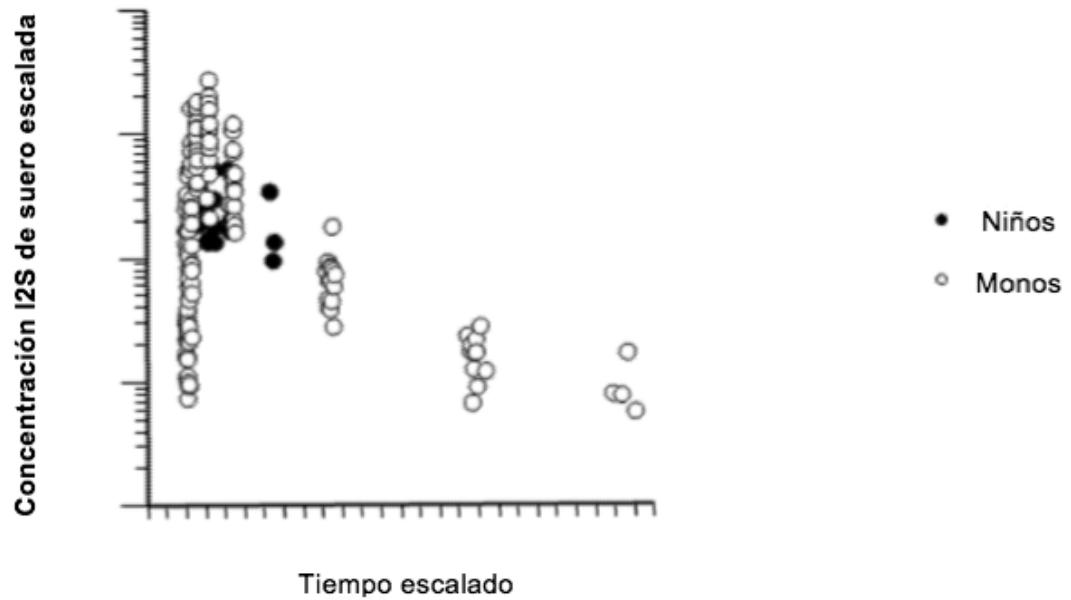
Parámetros PopPK alométricamente escalados a pediátrica para IT-I2S tras corrección por diferencia de relación cerebro/BW entre NHP y niños

Matriz	Parámetros	Estimaciones en monos	Factor de escalación ^a [BWhumano/BWnhp] ^b	Parámetros estimados en niños (<6 años de edad) (típico 10 kg)	Parámetros estimados en jóvenes (6-17 años de edad) (típico 50 kg)
Suero	V _c (mL)	99.2	3.66 ○ 18.3	363	1817
	V _p (mL)	310	3.66 ○ 18.3	1136	5678
	CL (mL/h)	149	2.65 ○ 8.85	395	1319
	CL _d (mL/h)	90.4	2.65 ○ 8.85	239	800
CSF	V _{CSF} (mL)	1.15	3.66 ○ 18.3	4	21
	V ₂ (mL)	6.31	3.66 ○ 18.3	23	116
	V ₃ (mL)	2.27	3.66 ○ 18.3	8	42
	CL _{CSF} (mL/h)	0.224	2.65 ○ 8.85	1	2
	CL ₂ (mL/h)	0.455	2.65 ○ 8.85	1	4
	CL ₃ (mL/h)	1.60	2.65 or 8.85	4	14
	K _{IN} (1/h)	0.273	0.723 ○ 0.483	0.197	0.132
	F(%) (SYS to CSF)	0.0492	NA	0.0492	0.0492
	K _{OUT} (1/h)	0.124	0.723 ○ 0.483	K _{out} *R = 0.043	0.0599
	Lag (h)	0.0665	NA	0.0665	0.0665
	F(%) (CSF to SYS)	51.1	NA	F* R = 10.7	51.1

^aUtilizando BW de 2,73 kg en monos y BW correspondiente en hombre. **b** = 0,75 para aclaraciones, 1 para volúmenes y -0,25 para velocidades, R = 0,209, relación de peso cerebro/cuerpo mono sobre niño

Fig. 5

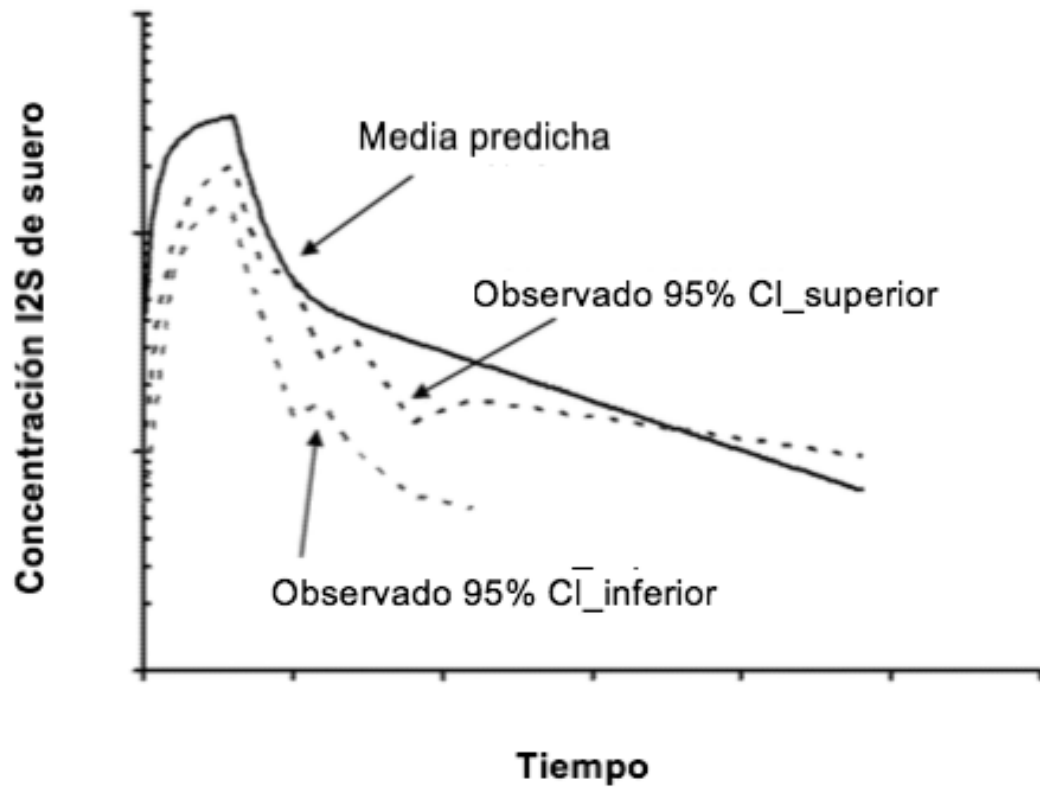
Gráfica de Dedrick elemental de concentración de suero I2S BW-escalado vs. tiempo escalado en sujetos pediátricos y monos tras dosificación IT-L



^aUtilizando BW de 2,73 kg en monos y BW correspondiente en hombre. ^b = 0,75 para aclaraciones, 1 para volúmenes y -0,25 para velocidades, ^cParámetros fueron escalados utilizando un peso corporal mediano (20,6 kg) de sujetos clínicos humanos

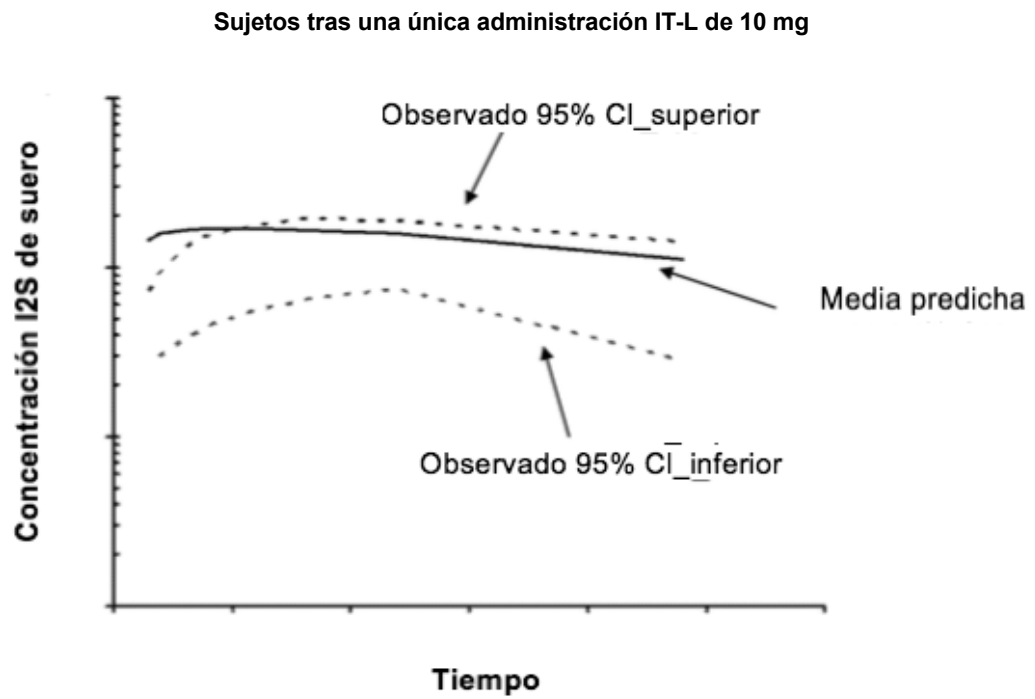
Fig. 6

Concentración de suero observado vs predicho-perfil de tiempo de I2S en sujetos pediátricos siguiendo una infusión IV única de I2S (0,5 mg/kg)



Perfil predicho tras la administración IV bien predicha por el modelo NC escalado

Fig. 7



Aplicación de corrección de relación cerebro/BW mejora la predicción

Fig. 8

Concentración de suero observado vs predicho-perfil de tiempo de I2S en sujetos pediátricos siguiendo una administración IT-L única de 10 mg

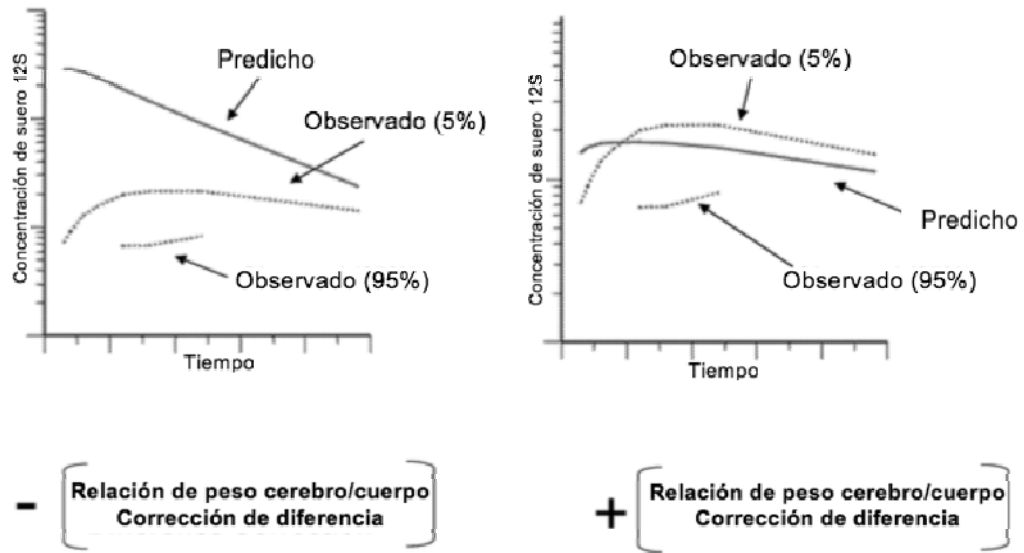


Fig. 9

Muestreo optimo en suero y CSF de sujetos pediátricos

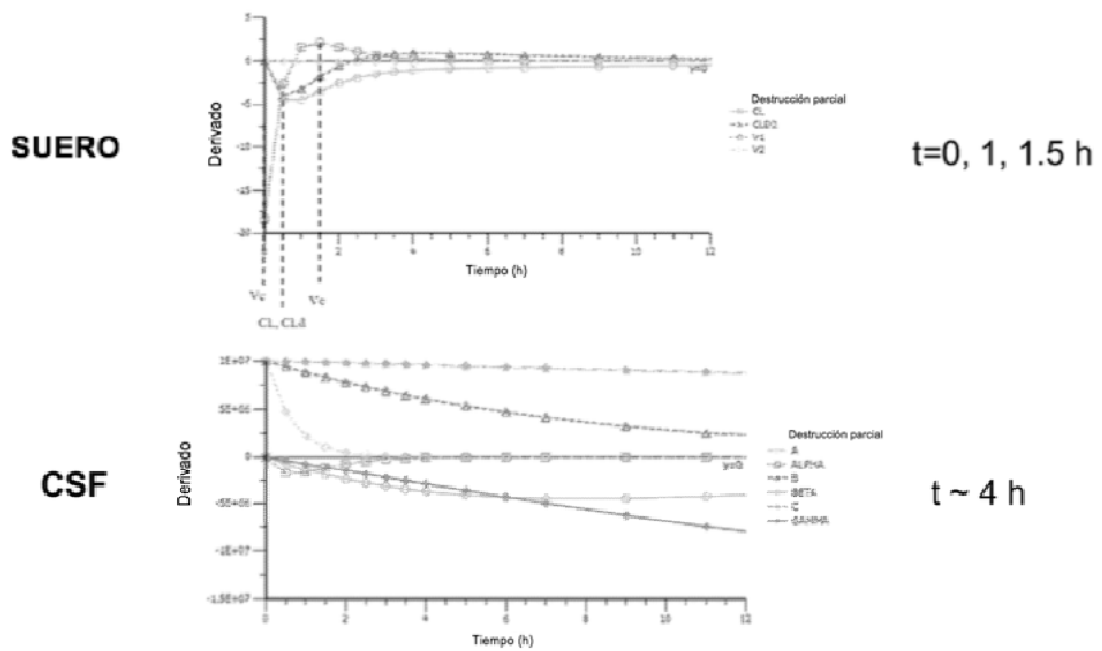
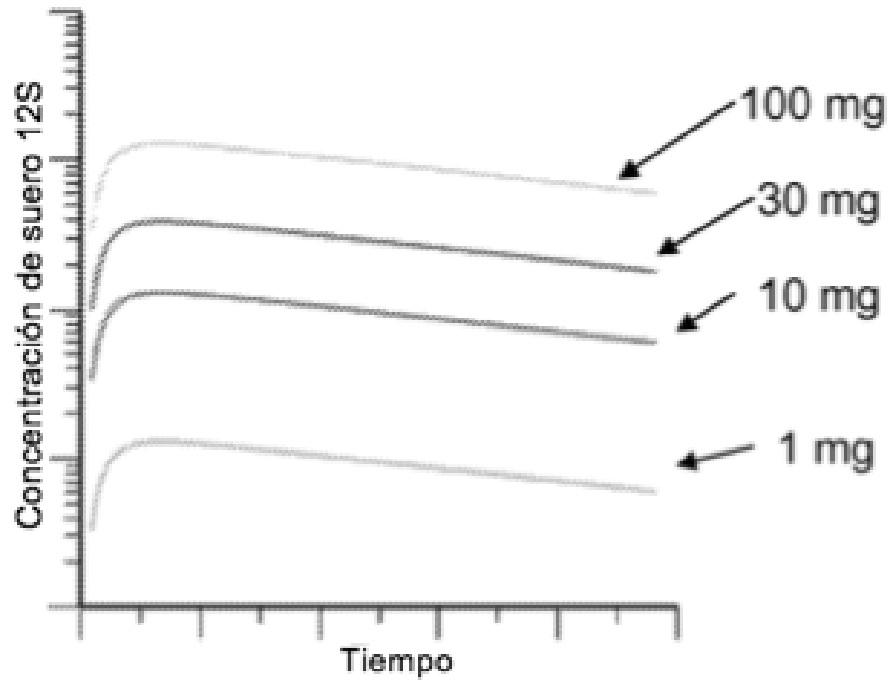


Fig. 10

Situación de concentración I2S de suero siguiendo la administración IT-L a 1, 10, 30 y 100 mg (utilizando el modelo humano)

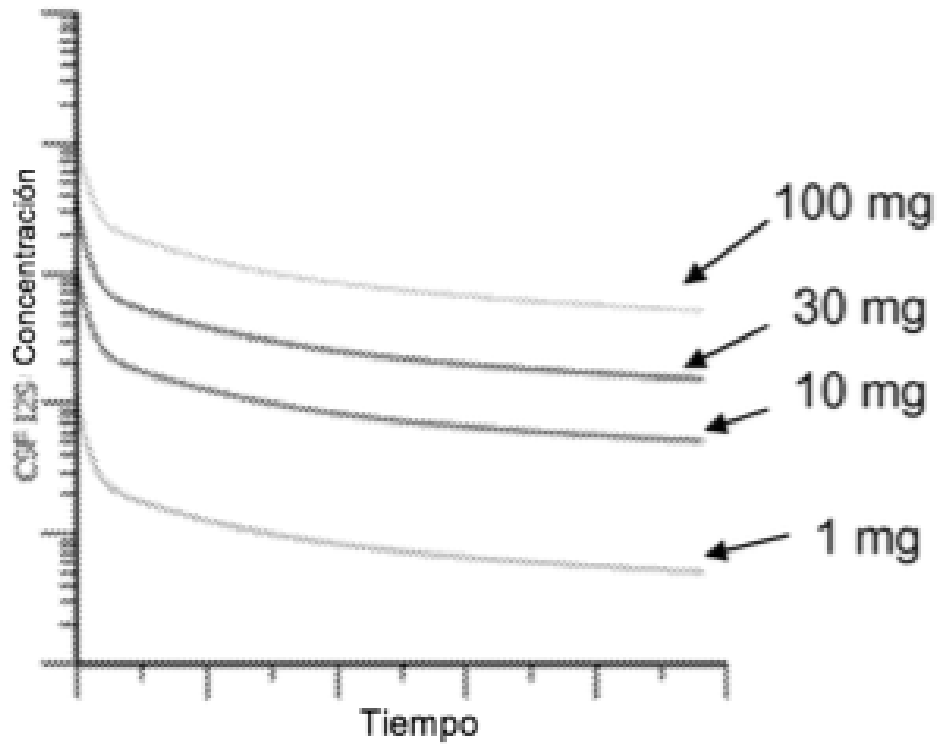


Exposición I2S predicha en suero de niños

Dosis (mg)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{0-∞} (ng·h/mL)
1	13.0	1315
10	130	13150
30	390	39449
100	1300	131495

Fig. 11

Simulación de concentración CSF IS2 siguiendo la administración IT-L a 1, 10, 30 y 100 mg (utilizando el modelo alométrico)



Exposición I2S predicha en CSF

Dosis (mg)	C₀ (ng/mL)	AUC_{0-∞} (ng*h/mL)
1	103179	1315724
10	1031792	13157240
30	3095377	39471716
100	10317917	1.32E+08

Fig. 12

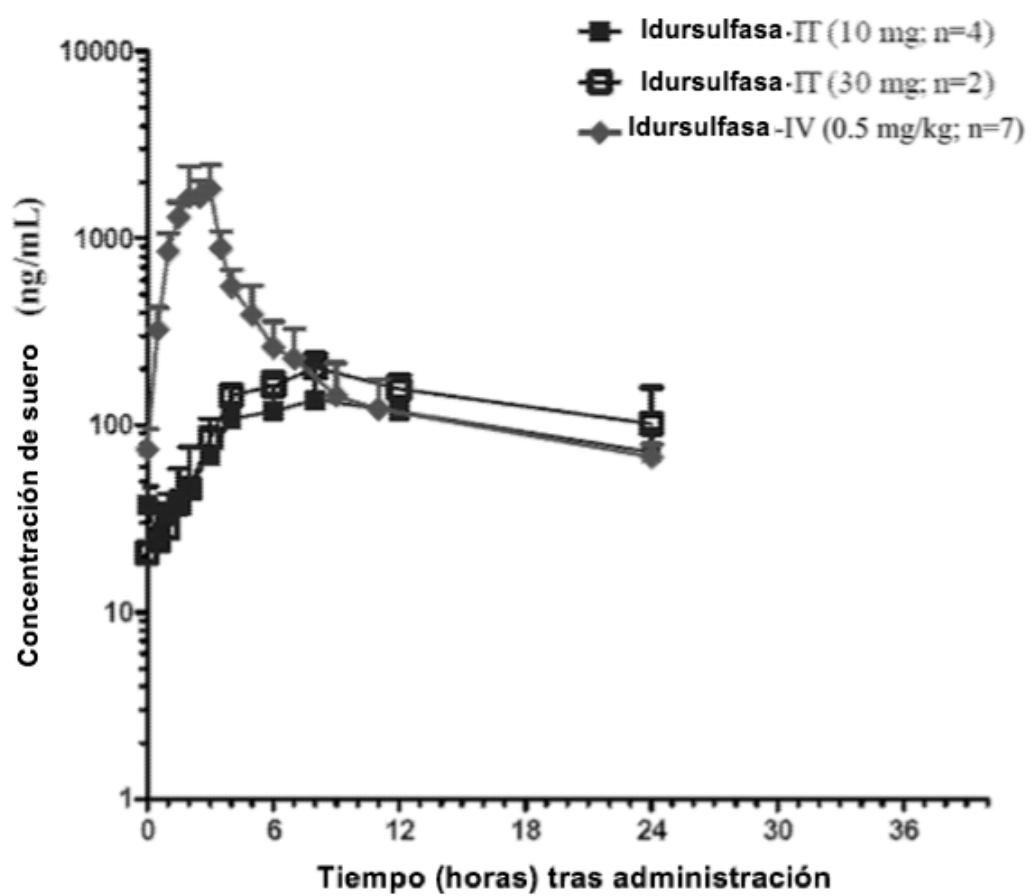


Fig. 13

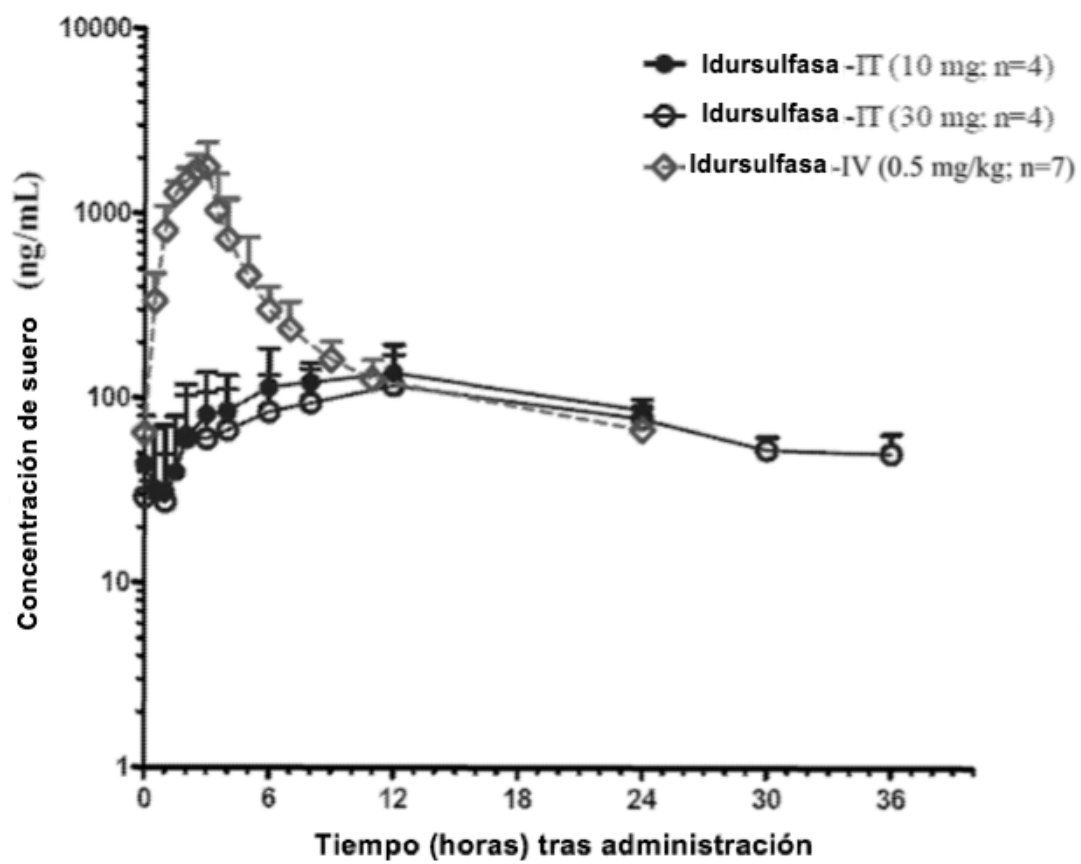


Fig. 14

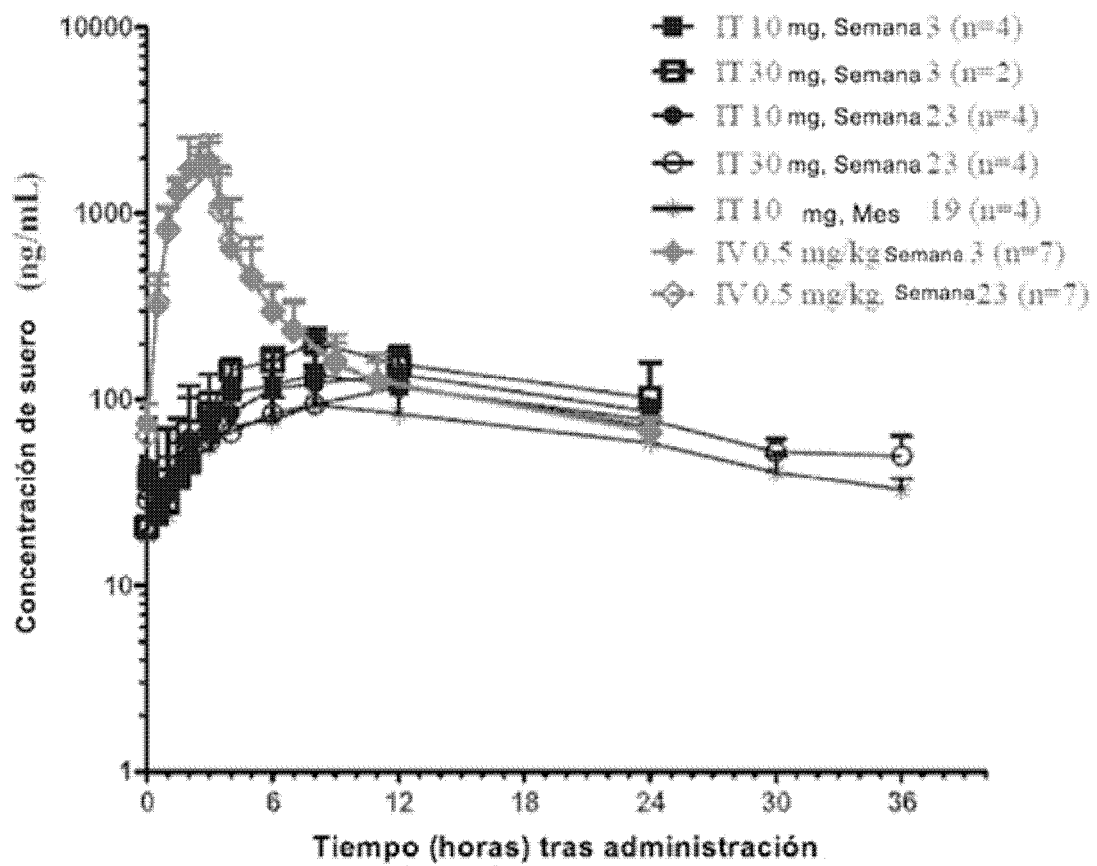


Fig. 15

Niveles de GAG de fluido cerebrospinal para el grupo de tratamiento de 10 mg (0-36 meses)

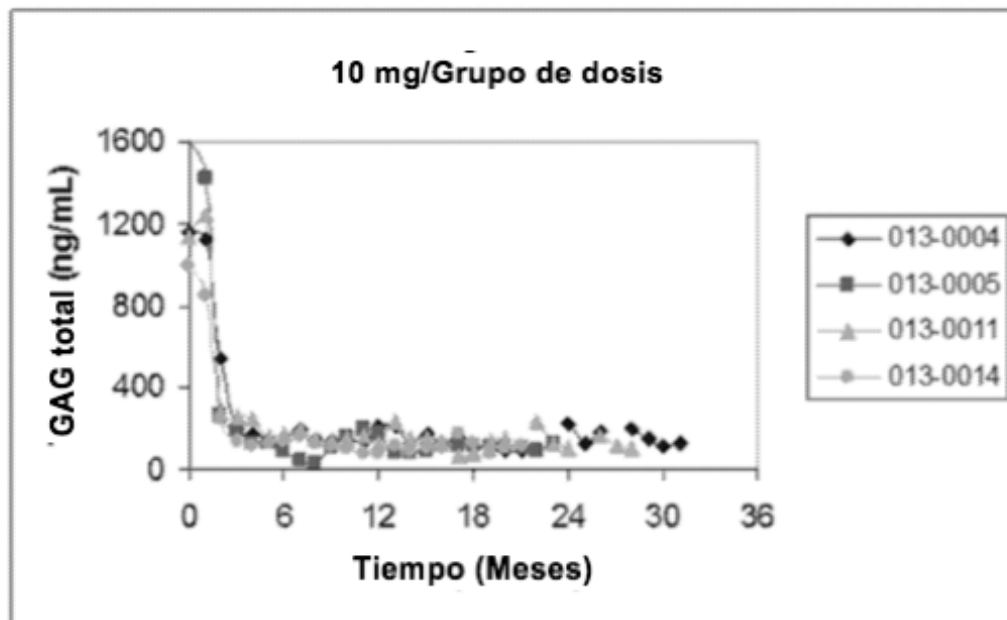


Fig. 16

Niveles de GAG de fluido cerebrospinal para el grupo de tratamiento de 30 mg (0-15 meses)

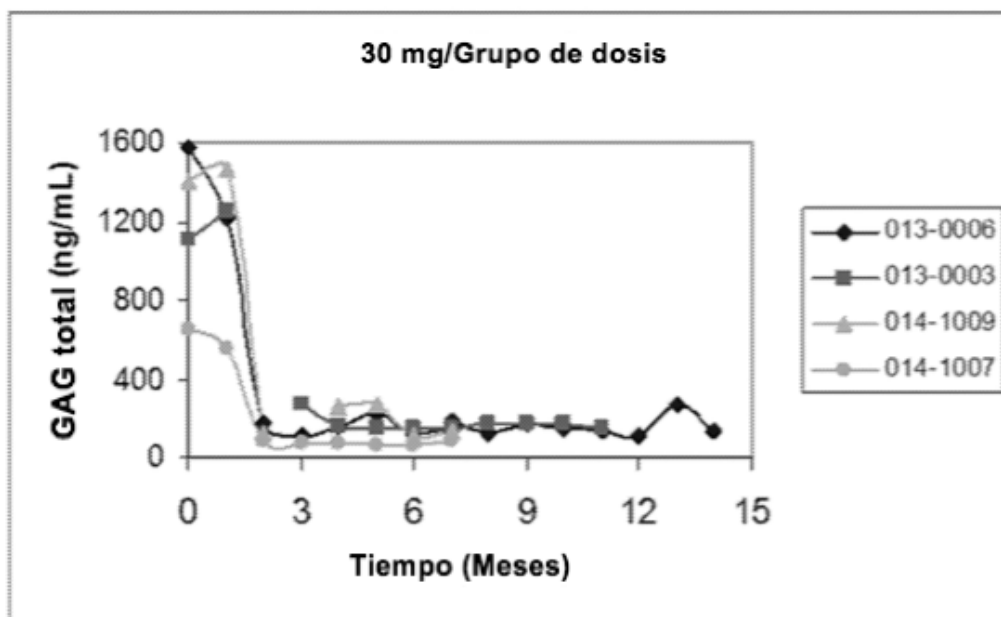


Fig. 17

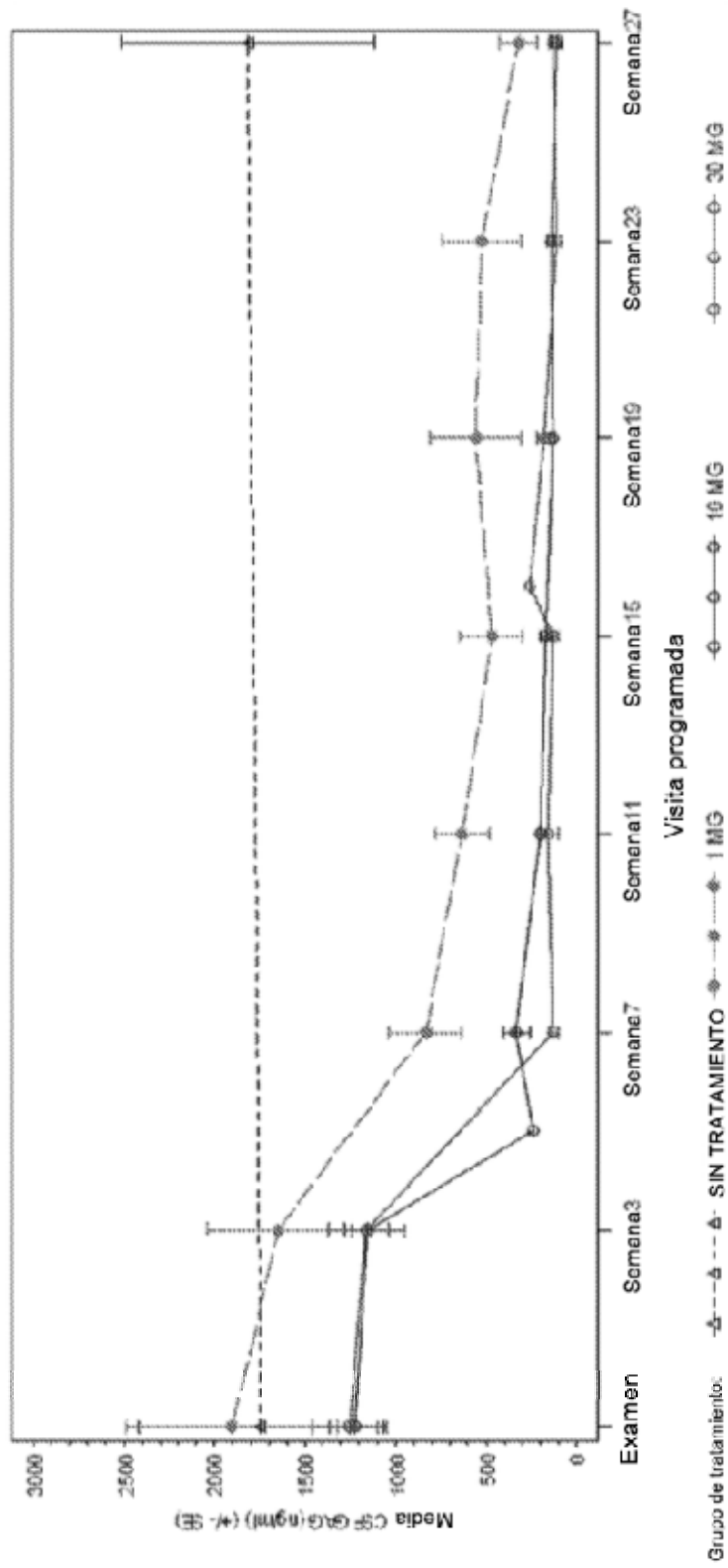


Fig. 18

Puntuación de independencia ancha

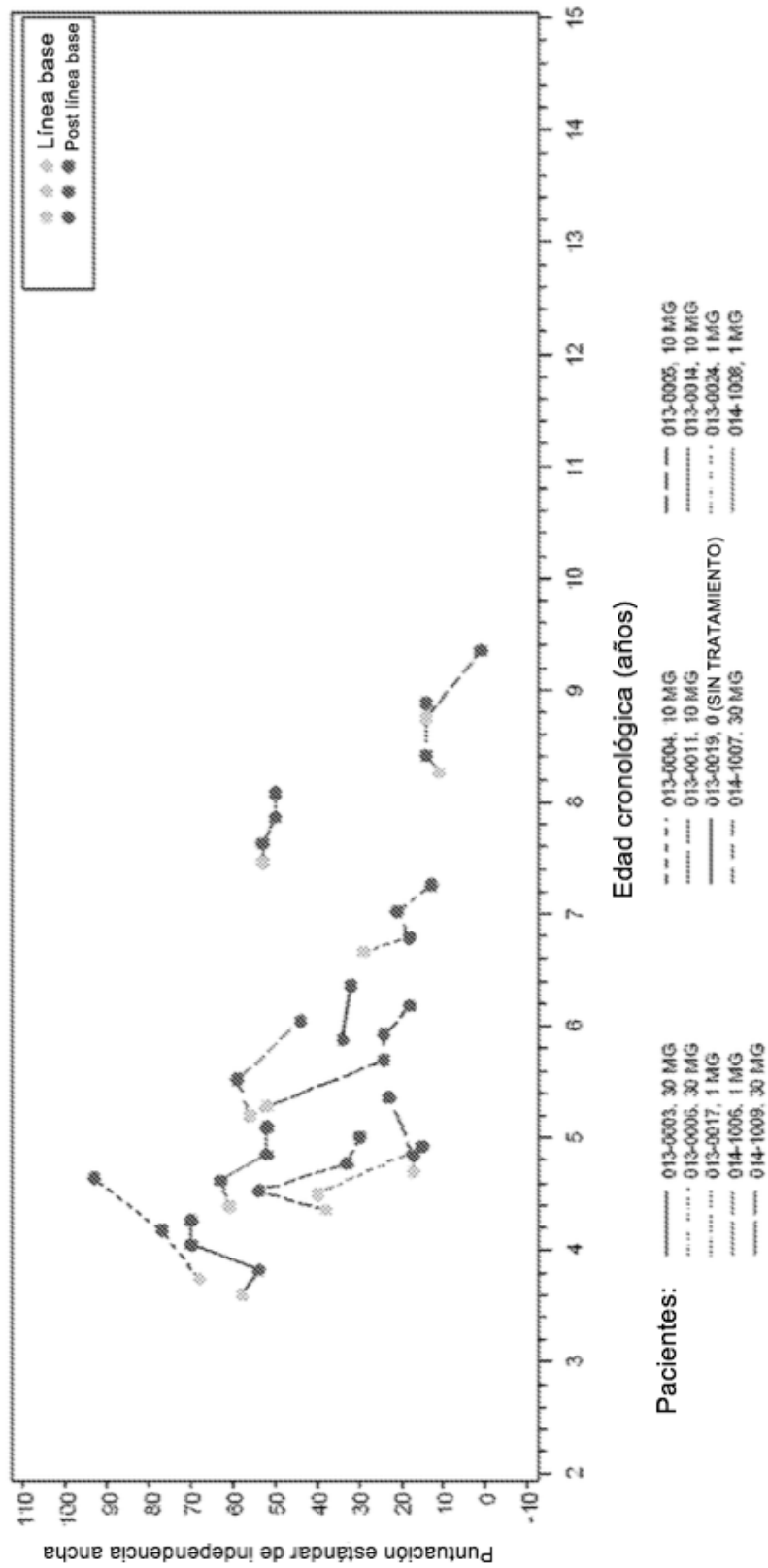


Fig. 19

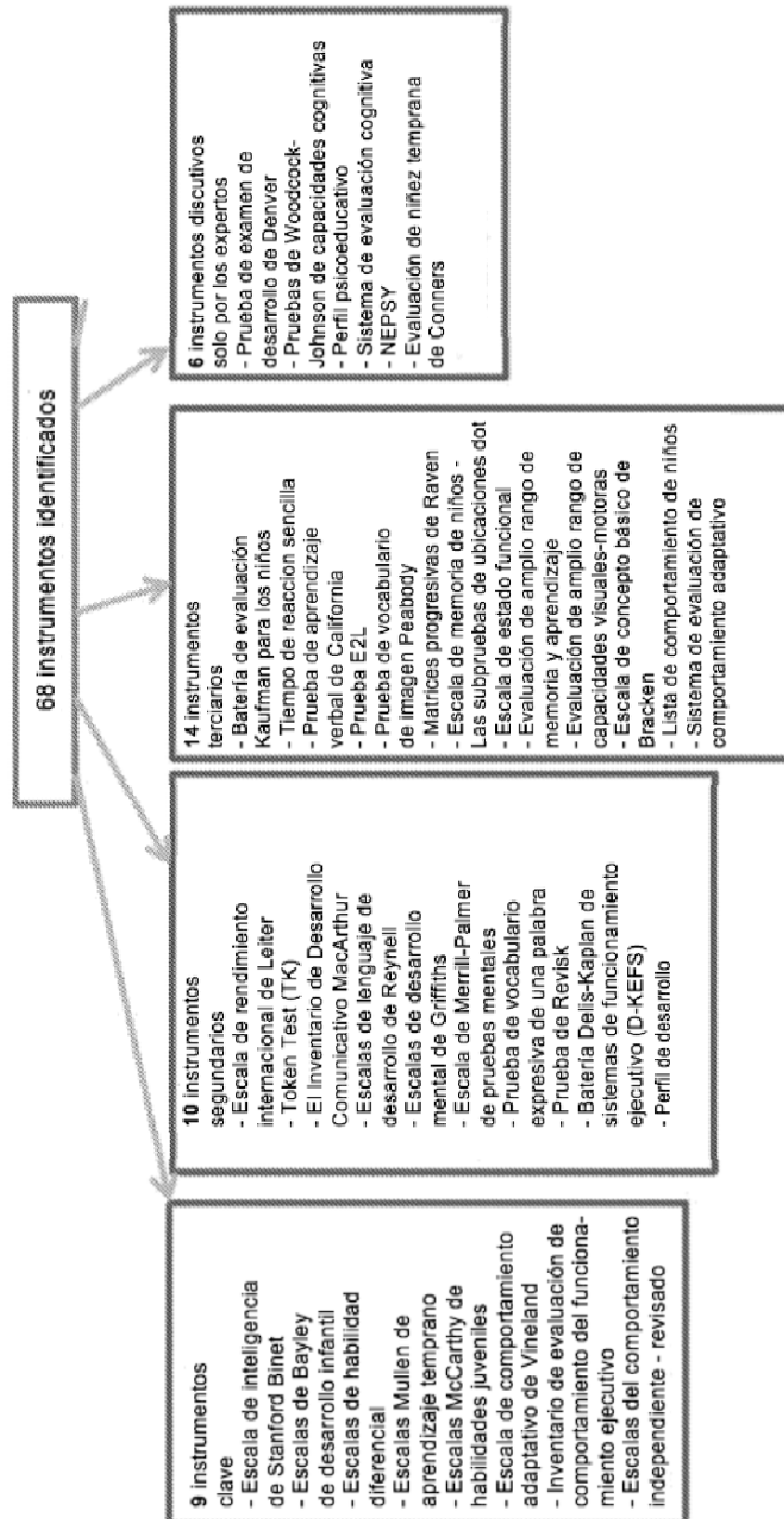


Fig. 20

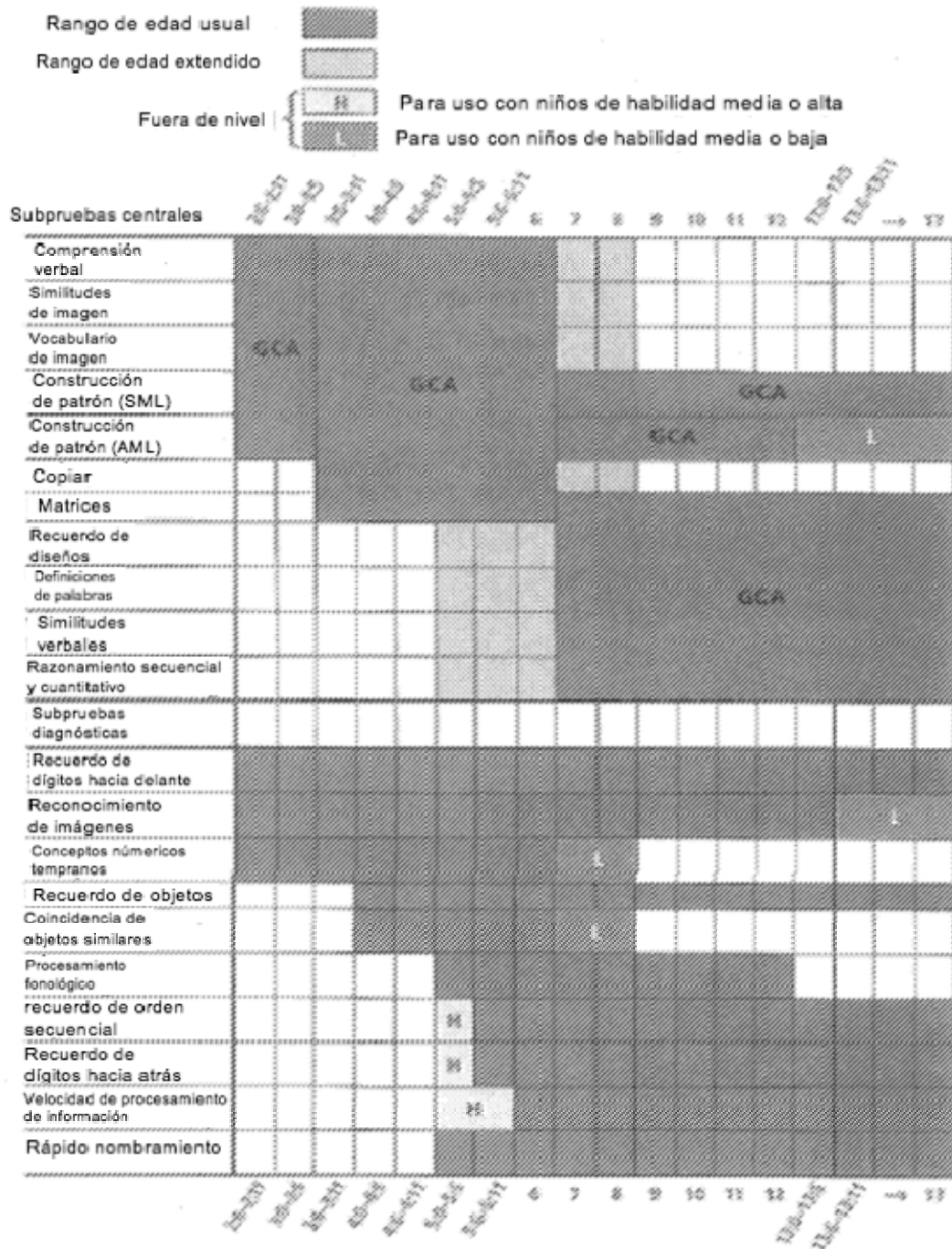


Fig. 21