# (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

- (43) Дата публикации заявки 2023.07.03
- (22) Дата подачи заявки 2021.09.02

- (51) Int. Cl. A61P 19/00 (2006.01) A61P 19/08 (2006.01) A61K 38/43 (2006.01)
- (54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ МИНЕРАЛИЗАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ
- (31) 63/074,917
- (32) 2020.09.04
- (33) US
- (86) PCT/US2021/048792
- (87) WO 2022/051452 2022.03.10
- (71) Заявитель: АЛЕКСИОН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)
- **(72)** Изобретатель:

Петрик Анна, Кучча Лоредана (US)

- (74) Представитель:Медведев В.Н. (RU)
- (57) Предусмотрены композиции и способы лечения нарушений минерализации костной ткани, таких как гипофосфатазия (HPP). В некоторых вариантах осуществления описываемые в данном документе способы применимы для лечения взрослых субъектов с HPP и/или лечения или предупреждения переломов костей.

#### ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-577440EA/055

# СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ МИНЕРАЛИЗАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Настоящая заявка испрашивает преимущество предварительной заявки на патент США № 63/074917, поданной 4 сентября 2020 года, содержание которой включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Гипофосфатазия (НРР) представляет собой редкое серьезное генетическое нарушение, обусловленное мутацией (мутациями), обуславливающей (обуславливающими) потерю функции, в гене, кодирующем тканенеспецифическую щелочную фосфатазу (TNALP). Гипофосфатазия в зависимости от возраста пациентов характеризуется клиническими взаимозависимыми проявлениями, возникающими неспособности минерализовать костный матрикс вследствие повышенных концентраций субстрата TNALP, представляющего собой РРі. Повышение уровней внеклеточного РРі подавляет минерализацию костной ткани, блокируя рост кристаллов гидроксиапатита, что вызывает выраженное накопление неминерализованного костного матрикса. НРР характеризуется дефектной минерализацией костной ткани и нарушенной регуляцией фосфатов и кальция, что является прямым результатом дефицита TNALP, который может привести к прогрессирующему повреждению жизненно важных органов наряду с другими клиническими последствиями, в том числе к деформации и мягкости костей (рахиту и остеомаляции), переломам и псевдопереломам, боли, глубокой мышечной слабости, дыхательной недостаточности (преимущественно y младенцев), судорогам (преимущественно у младенцев), нарушенной функции почек, нарушенной подвижности и патологическим изменениям зубов. У пациентов с перинатальным/младенческим началом НРР течение заболевания потенциально приводит к смертельному исходу.

У пациентов с перинатальным/младенческим началом НРР дефекты минерализации костной ткани с последующими скелетными деформациями и переломами и рахитическими изменениями грудной клетки могут привести к неспособности грудной клетки поддерживать нормальную респираторную функцию и могут увеличить риск зависимости от искусственной вентиляции легких и риск преждевременной смерти. У наиболее тяжело пораженных пациентов смертность варьирует в диапазоне от 50% до 100%. У взрослых НРР проявляется в виде рецидивирующих и/или плохо регенерирующих переломов и хронической боли, что приводит к резкому снижению качества жизни и повседневные действия. Тяжелые функциональные нарушения зачастую присутствуют и у взрослых пациентов с НРР, в том числе проблемы с подвижностью (нарушения ходьбы и походки), мышечная слабость и неспособность осуществлять повседневные действия, зависимость от устройств для перемещения, которые в совокупности сильно влияют на качество жизни пациентов. Взрослым пациентам с НРР также зачастую в течение многих лет ставят неправильный диагноз, при этом для надлежащего лечения решающее значение имеет

точный диагноз НРР.

У пациентов, доживших до подросткового и взрослого возраста, долгосрочные клинические последствия включают рецидивирующие и незаживающие переломы, бремя ортопедических/стоматологических хирургических вмешательств, слабость, артрит, невозможность удалить устройства внутренней фиксации (вследствие риска рецидивирующего перелома), боль, нарушенную подвижность и потребность в амбулаторных вспомогательных устройствах (например, креслах-колясках, ходунках на колесиках и тростях). Независимо от возраста, в котором впервые проявляется НРР, высокое бремя заболевания может привести к уменьшению качества жизни, связанного со здоровьем, которое может дополнительно уменьшаться на протяжении жизни пациента. Признаки и/или симптомы НРР могут также затрагивать психическое и эмоциональное здоровье детей и взрослых с данным заболеванием, что ассоциировано со значительным использованием ресурсов здравоохранения.

До асфотазы альфа (STRENSIQ®, Alexion Pharmaceuticals, Inc. Бостон, Массачусетс), получившей регистрационное свидетельство (в Европейском союзе, Японии, Канаде, США и т. д.), клиническое ведение НРР было в основном поддерживающим и направленным на разрешение симптомов (например, респираторная поддержка, ортопедическое вмешательство и болеутоляющий лекарственный препарат) заболевания, но не лежащей в ее основе патофизиологии. Таким образом, несмотря на симптоматическое лечение, у большинства пациентов наблюдались значительные осложнения (патологии роста и деформации костей, боли в костях, переломы/псевдопереломы, физическую дисфункцию и/или расстройство дыхания).

Асфотаза альфа представляет собой человеческий рекомбинантный слитый белок TNALP-Fc-дека-аспартат, полученный с помощью технологии рекомбинантной ДНК с применением культуры клеток млекопитающих, представляющей собой клетки яичника китайского хомячка (СНО). Она представляет собой растворимый гликопротеин из 726 аминокислот, который содержит каталитический домен человеческой TNALP, Fc-домен человеческого иммуноглобулина (Ig) G1 и декааспартатный пептидный домен, применяемый для нацеливания на костную ткань. Пациентам с НРР с началом в детском возрасте, в том числе перинатальным/младенческим началом и ювенильным началом (таблица 1), показана асфотаза альфа, которая была одобрена в США для долгосрочного лечения НРР.

Таблица 1. Классификации гипофосфатазии

Tuomingu 1. Tuluoonyimaanii 111110yooya 1asiii	
Форма заболевания	Возраст на момент появления первых признаков/симптомов
Перинатальный	Во время внутриутробного развития
Младенческий	<6 месяцев
Детство (ювенильный)	От ≥ 6 месяцев до < 18 лет
Взрослый	≥18 лет

Форма заболевания	Возраст на момент появления первых признаков/симптомов
Только	Гипофосфатазия зубов
стоматологические	
проявления	

У некоторых взрослых пациентов наблюдается умеренный фенотип минерализации костной ткани, который может быть диагностирован должным образом только в более позднем возрасте. Таким образом, существует потребность в эффективных способах лечения таких пациентов с НРР и другими нарушениями минерализации костной ткани.

## СУЩНОСТЬ НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

В одном аспекте предусмотрен способ лечения нарушения минерализации костной ткани у субъекта-человека (например, у взрослого субъекта-человека), у которого наблюдается уровень по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани, который позволяет определить субъекта как нуждающегося в лечении по поводу нарушения минерализации костной ткани. Способ может включать введение по меньшей мере одной дозы растворимой щелочной фосфатазы (sALP) субъекту на первой фазе лечения режима лечения; наблюдение субъекта во время первой фазы лечения на предмет изменений по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани и выявление улучшения (например, на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или больше) по меньшей мере по одному биохимическому, физическому показателю, показателю качестве жизни или костной ткани выше предварительно определенного порога метрического показателя. Затем субъект может войти в первую фазу без лечения режима лечения, во время которой субъекту не вводят sALP.

Способ может дополнительно включать наблюдение субъекта во время первой фазы без лечения в течение некоторого периода времени на предмет изменений по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани; выявление уровня по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани ниже предварительно определенного порога метрического показателя и введение по меньшей мере одной дозы sALP субъекту на второй фазе лечения режима лечения. Любую из описанных выше стадий можно повторять один или несколько раз, так что режим лечения включает множество фаз лечения и/или без лечения.

Нарушение минерализации костной ткани может представлять собой дефицит щелочной фосфатазы, такой как гипофосфатазия (HPP). HPP может представлять собой HPP с началом в юношеском возрасте. У субъекта может не быть ранее диагностированной HPP или может не быть диагностирована HPP до взрослого возраста. Субъект может быть интактным (например, ему ранее не вводили sALP).

В другом аспекте предусмотрен способ лечения атипичного перелома бедренной

кости (AFF) у субъекта-человека, включающий назначение субъекту режима лечения, предусматривающего по меньшей мере одну дозу sALP. sALP можно вводить в количестве и в течение времени, которые являются достаточными для восстановления после AFF. У субъекта может наблюдаться уровень по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани, который позволяет определить субъекта как нуждающегося в лечении AFF. Способ может дополнительно включать наблюдение субъекта во время режима лечения на предмет изменений по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани. Способ может дополнительно включать выявление улучшения по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани выше предварительно определенного порога метрического показателя и вхождение в фазу без лечения режима лечения, во время которой субъекту не вводят sALP. У субъекта может быть нарушение минерализации костной ткани (например, дефицит щелочной фосфатазы, например, НРР). Альтернативно, у субъекта может не быть нарушения минерализации костной ткани (например, НРР) или у него может не быть ранее диагностированного нарушения. НРР может представлять собой НРР с началом в юношеском возрасте. В некоторых вариантах осуществления у субъекта может не быть диагностированной НРР до взрослого возраста. В некоторых вариантах осуществления субъекту ранее вводили или в настоящее время вводят бисфосфонат.

В некоторых вариантах осуществления щелочная фосфатаза представляет собой тканенеспецифическую щелочную фосфатазу, плацентарную щелочную фосфатазу, кишечную щелочную фосфатазу, сконструированную щелочную фосфатазу, слитый белок, включающий фрагмент щелочной фосфатазы, или химерную щелочную фосфатазу. Щелочная фосфатаза может включать аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90%, 95%, 97% или 99% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1. Например, щелочная фосфатаза может включать или состоять из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 1.

Биохимический метрический показатель, который можно применять для наблюдения субъекта, можно выбрать из группы, состоящей из уровней в плазме крови пирофосфата (PPi), пиридоксил-5'-фосфата (PLP), фосфоэтаноламина (PEA) и щелочной фосфатазы (ALP) или их комбинации.

Метрический показатель качества жизни, который можно применять для наблюдения субъекта, можно выбрать из группы, состоящей из пятипараметрического опросника EuroQol (EQ-5D), опросного листа состояния здоровья ребенка (CHAQ), инструмента для сбора данных о результатах у детей (PODCI), индекса оценки общего состояния здоровья ребенка -9D (CHU-9D), инструментальной шкалы для оценки качества жизни у детей (PedsQL), шкалы оценки функций нижних конечностей (LEFS), краткой формы опросника состояния здоровья 36 (SF-36) и краткой формы опросника состояния

здоровья 12 (SF-12) или их комбинации.

Физический метрический показатель, который можно применять для наблюдения субъекта, можно выбрать из группы, состоящей из теста шестиминутной ходьбы (6МWT), теста двигательных навыков Бруининкса-Озерецкого 2-го издания (ВОТ-2), шкалы Бейли для оценки развития младенцев и детей дошкольного возраста 3-го издания (ВSID-III), шкалы оценки мышечной силы, теста на ручном динамометре (ННD), шкал оценки моторного развития Peabody 2-го издания (PDMS-2), анализа походки, краткой батареи тестов физического функционирования (SPPB) и временного теста "встань и иди" (TUG) или их комбинации. SPPB может включать тест повторного вставания со стула.

Физический метрический показатель можно контролировать с помощью нательного устройства, такого как нательное устройство, которое включает в себя акселерометр. Нательное устройство может быть выполнено с возможностью ношения на руке (например, запястье), ноге или туловище субъекта. Нательное устройство может отслеживать одно или несколько биометрических показаний субъекта. Например, биометрические показания можно выбрать из числа шагов в день, средней частоты сердечных сокращений, наивысшей частоты сердечных сокращений, числового значения количества физической активности, среднего количества времени, проведенного на различных уровнях активности, соотношения различных уровней активности, продолжительности различных уровней активности и продолжительности общего времени сна. Различные уровни активности можно выбрать из малоподвижного, легкого, умеренного и энергичного. Физические метрические показатели можно контролировать с применением нательного устройства в течение периода, составляющего по меньшей мере две недель (например, во время фазы лечения, или во время фазы без лечения, или во время обеих фаз).

Во время фазы без лечения субъекту можно не вводить sALP в течение периода, составляющего по меньшей мере 1 месяц, например, по меньшей мере 6 месяцев, например, по меньшей мере 1 год или дольше.

Во время фазы лечения sALP можно вводить в дозировке, составляющей от приблизительно 1 мг/кг/неделя до приблизительно 12 мг/кг/неделя (например, от приблизительно 2 мг/кг/неделя до приблизительно 9 мг/кг/неделя, например, от приблизительно 2,5 мг/кг/неделя до приблизительно 6 мг/кг/неделя). В некоторых вариантах осуществления sALP вводят в дозировке, составляющей приблизительно 2,6 мг/кг/неделя, 3,6 мг/кг/неделя или приблизительно 6 мг/кг/неделя.

Дозу sALP можно скорректировать в ходе лечения. Например, sALP можно вводить в дозировке, составляющей приблизительно 6 мг/кг/неделя, и затем снизить дозировку до значения, составляющего приблизительно 3,6 мг/кг в неделю. Например, sALP можно вводить в дозировке, составляющей приблизительно 6 мг/кг/неделю в течение приблизительно 12 недель, и затем снизить дозировку до значения, составляющего приблизительно 3,6 мг/кг/неделю, в течение приблизительно 24 недель.

Описываемые в данном документе способы можно применять для лечения или снижения риска перелома кости у субъекта. Например, способ может привести к

увеличению регенерации костной ткани, что приведет к образованию новой костной ткани в контрольной точке у субъекта по сравнению с контрольной точкой у субъекта до лечения. Увеличение регенерации костной ткани может представлять собой Увеличение непрозрачности. непрозрачности онжом определить c помощью рентгенографии или компьютерной томографии (СТ). Увеличение регенерации костной ткани может происходить между двумя частями кости, которая были разделена переломом. Способ может привести к среднему изменению минеральной плотности кости в контрольной точке, которое не поддается выявлению или не превышает 0,01% через восемь месяцев после введения sALP по сравнению с минеральной плотностью кости в контрольной точке у субъекта до лечения.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает лечение субъекта с помощью хирургического вмешательства. Хирургическое вмешательство может включать одно или несколько из артродеза, удаления кости, установки материала костного трансплантата и установки металлоконструкции (например, винта, стержня, пластины, металлического каркаса, гвоздя, штифта или гайки). Хирургическое вмешательство можно выбрать из группы, состоящей из артроскопии колена, плеча, бедра, лодыжки, локтя или запястья, перелома и менискэктомии, артроскопии и декомпрессии плеча, освобождения запястного канала, артроскопии и хондропластики коленного сустава, удаления опорного имплантата, артроскопии коленного сустава и реконструкции передней крестообразной связки, замены коленного сустава, восстановления после перелома шейки бедра, восстановления после атипичного перелома бедра (AFF), восстановления после вертельного перелома, дебридмента кожи/мышцы/кости/перелома, восстановления одного или обоих менисков после артроскопии коленного сустава, замена тазобедренного сустава, артроскопии плеча/резекция дистального отдела ключицы, восстановления сухожилия ротаторной манжеты плеча, восстановления после перелома лучевой или локтевой кости, ламинэктомии, восстановления после перелома лодыжки (двулодыжечного типа), артроскопии и дебридмента плеча, спондилодеза поясничного отдела позвоночника, лучевой перелома дистальной восстановления после части кости. межпозвонкового диска в нижней части спины, рассечения сухожильного влагалища пальца, восстановления после перелома лодыжки (малоберцовой кости), восстановления после перелома тела бедренной кости и восстановления после вертельного перелома.

sALP можно вводить раз в день, раз в неделю, раз в две недели или раз в месяц (например, во время фазы лечения). Например, sALP можно вводить два раза в неделю, три раза в неделю, четыре раза в неделю, пять раз в неделю, шесть раз в неделю или семь раз в неделю. В время периода лечения sALP можно вводить в течение периода лечения, составляющего по меньшей мере один месяц, по меньшей мере два месяца, по меньшей мере три месяца, по меньшей мере четыре месяца, по меньшей мере пять месяцев, по меньшей мере шесть месяцев, по меньшей мере семь месяцев, по меньшей мере восемь месяцев, по меньшей мере девять месяцев, по меньшей мере десять месяцев, по меньшей мере 11 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев или дольше. Период без лечения может

длиться по меньшей мере один месяц, по меньшей мере два месяца, по меньшей мере три месяца, по меньшей мере четыре месяца, по меньшей мере пять месяцев, по меньшей мере шесть месяцев, по меньшей мере семь месяцев, по меньшей мере восемь месяцев, по меньшей мере десять месяцев, по меньшей мере 11 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев или дольше.

sALP может быть составлена в фармацевтической композиции по меньшей мере с одним фармацевтически приемлемым носителем. Фармацевтически приемлемый носитель может включать солевой раствор. Например, фармацевтически приемлемый носитель может включать хлорид натрия и фосфат натрия, (например, 150 мМ хлорида натрия и 25 мМ фосфата натрия). Фармацевтическую композицию можно вводить подкожно, внутримышечно, внутривенно, перорально, назально, подъязычно, интратекально или внутрикожно.

В некоторых вариантах осуществления описываемых в данном документе способов способ приводит к среднему увеличению балла скорости бега и ловкости в баллах в тесте двигательных навыков Бруининкса-Озерецкого 2-го издания (ВОТ-2) до приблизительно 9 или более чем приблизительно 9. Медианный общий балл по скорости бега и ловкости в ВОТ-2 у субъекта можно определить относительно медианного общего балла по скорости бега и ловкости в ВОТ-2 у не подвергавшегося лечению субъекта с НРР. Общий медиальный балл скорости бега и ловкости в ВОТ-2 у субъекта можно определить по результатам измерений, выбранных из группы, состоящей из перешагивания через гимнастическое бревно, челночного бега, бокового прыжка на двух ногах и бокового прыжка на одной ноге. Способ может привести к среднему увеличению балла по силе в ВОТ-2 до приблизительно 18 или более чем приблизительно 18. Медианный общий балл по силе в ВОТ-2 у субъекта можно определить относительно медианного общего балла по силе в ВОТ-2 у не подвергавшегося лечению субъекта с НРР. Медианный общий балл по силе в ВОТ-2 у субъекта можно определить относительно медианного общего балла по силе в ВОТ-2 у здорового субъекта. Общий медиальный балл по силе в ВОТ-2 у субъекта можно определить по результатам измерений, выбранных из группы, состоящей из приседаний, Vобразных скручиваний лежа, прыжка в длину с места, приседания у стены и отжиманий.

В некоторых вариантах осуществления описываемых в данном документе способов способ может привести к улучшению способности ходить по сравнению со способностью ходить у субъекта, выбранного из группы, состоящей из здорового субъекта и не подвергавшегося лечению субъекта с НРР. Например, у субъекта может увеличиться среднее количество ежедневных шагов на 100, 200, 300, 400, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000 или больше в день. Субъект может демонстрировать уменьшенную зависимость от вспомогательного устройства для передвижения (например, кресла-коляски, фиксирующих устройств, костылей или ортопедических аппаратов) после введения sALP.

Описываемые в данном документе способы могут привести к среднему уменьшению концентрации неорганического пирофосфата (РРі) в образце плазмы крови от субъекта

относительно значений концентрации PPi в образце плазмы крови от не подвергавшегося лечению субъекта с HPP. Способ может привести к среднему уменьшению концентрации пиридоксаль-5'-фосфата (PLP) в образце плазмы крови от субъекта относительно значений концентрации PLP в образце плазмы крови от не подвергавшегося лечению субъекта с HPP. Способ может привести к среднему увеличению концентрации щелочной фосфатазы в образце плазмы крови от субъекта относительно концентрации щелочной фосфатазы в образце плазмы крови от не подвергавшегося лечению субъекта с HPP.

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен набор, который включает нательное устройство и sALP. Нательное устройство может включать акселерометр. Нательное устройство может быть выполнено с возможностью ношения на запястье субъекта. Набор может дополнительно включать периферийное устройство (например, смартфон). Периферийное устройство может быть выполнено с возможностью запуска программного приложения (например, мобильного приложения, например, приложения для смартфона).

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ наблюдения режима лечения посредством sALP у субъекта путем выявления изменения по меньшей мере одного физического метрического показателя на основе биометрических показаний, полученных с помощью нательного устройства. Биометрические показания можно выбрать из количества шагов в день, средней частоты сердечных сокращений, числового значения количества физической активности, среднего количества времени, проведенного на различных уровнях активности, соотношения различных уровней активности, продолжительности различных уровней активности и продолжительности общего времени сна. Различные уровни активности можно выбрать из малоподвижного, легкого, умеренного и энергичного. Физические метрические показатели можно контролировать с применением нательного устройства в течение периода, составляющего по меньшей мере две недель (например, во время фазы лечения, или во время фазы без лечения, или во время обеих фаз).

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных аспектов дозу определяют на основе фактического веса тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных аспектов дозу определяют на основе идеального веса тела субъекта.

### Определения

Термин в форме единственного и множественного числа представляет собой одно конкретное существительное или несколько конкретных существительных. Например, фраза "клетка млекопитающего" означает "одну или несколько клеток млекопитающего".

Термин "приблизительно" означает  $\pm 10\%$  от указанного значения. Подразумевают, что все результаты измерений, представленные в данном документе, модифицированы термином "приблизительно", независимо от того, применяют ли данный термин в прямой форме или нет, если явно не указано иное.

Термин "асфотаза альфа" (STRENSIQ®, Alexion Pharmaceuticals, Inc., Бостон,

Массачусетс) относится к человеческому рекомбинантному слитому белку TNALP-Fс-дека-аспартату, полученному с помощью технологии рекомбинантной ДНК с применением культуры клеток млекопитающих, представляющей собой клетки яичника китайского хомячка (СНО). Асфотаза альфа представляет собой растворимый слитый гликопротеин, состоящий из 2 идентичных полипептидных цепей. Каждая полипептидная цепь содержит каталитический домен человеческой TNALP (Swiss-Prot, P05186), Fc-домен человеческого IgG1 (Swiss-Prot, P01857) (для облегчения очистки) и декааспартатный пептидный домен, применяемый для нацеливания на костную ткань. Последовательность асфотазы альфа изложена под SEQ ID NO: 1. Две полипептидные цепи соединены двумя межцепочечными дисульфидными связями в шарнирной области. Асфотаза альфа может экспрессироваться в сконструированной линии клеток СНО, которая сохраняет эндогенные фолдинг, сортировку, образование дисульфидных мостиков и N-гликозилирование.

Термин "функциональная единица, обеспечивающая нацеливание на костную ткань" означает аминокислотную последовательность длиной по меньшей мере 3 аминокислотных остатка, характеризующуюся достаточной аффинностью к костному матриксу, такой что взятая отдельно функциональная единица, обеспечивающая нацеливание на костную ткань, обладает аффинностью связывания с костным матриксом *in vivo*, которая составляет по меньшей мере приблизительно  $1 \times 10^{-5}$  M, или является лучшей (например, составляет приблизительно  $10^{-6}$  M, приблизительно  $10^{-7}$  M, приблизительно  $10^{-8}$  M, приблизительно  $10^{-9}$  M или является лучшей).

Термин "нарушение минерализации костной ткани" относится к заболеванию или влияет на нормальную минерализацию состоянию. которое костной Иллюстративными нарушениями минерализации костной ткани являются НРР (например, перинатальная НРР, младенческая НРР, детская НРР и одонтогипофосфатазия), НРРподобное заболевание. отложение пирофосфата кальция (CPPD), семейная гипофосфатемия, перелом кости, остеопороз, склеростеоз, хондрокальциноз, трахеобронхомаляция, нейрофиброматоз 1 (NF1) и краниосиностоз. Из уровня техники известны другие нарушения минерализации костной ткани. Нарушение минерализации костной ткани может возникать в связи с неспособностью минерализовать костный концентраций субстрата матрикс, например, вследствие повышенных TNALP, представляющего собой РРі.

Термины "Краткий опросник для оценки выраженности болевого синдрома - сокращенная форма" и "BPI-SF", применяемые в данном документе взаимозаменяемо, относятся к способу измерения боли у пациента, в частности, пациента с нарушением минерализации костной ткани, таким как HPP (например, пациентов возрастом приблизительно 13 лет или старше). BPI-SF представляет собой средство для самооценки боли, описанное в работе Cleeland & Ryan (Ann Acad Med Singapore, 23(2), 129-138; 1994), которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. BPI-SF представляет собой опросник, разработанный для оценки степени тяжести боли и влияния боли на повседневные функции. BPI-SF состоит из 11 пунктов, в которых используется

числовая оценочная шкала для оценки степени тяжести боли (4 пункта) и влияния боли (7 пунктов) за 24 часа до применения опросника. В опроснике BPI-SF предоставлена информация об интенсивности боли и степени, в которой боль мешает повседневным функциям пациента по числовой оценочной шкале от 0 (отсутствие боли) до 10 (сильная боль или значительное влияние, обусловленное болью); более низкие баллы указывают на лучшее качество жизни и снижение боли. Например, баллы по BPI-SF у подростковых и взрослых пациентов с HPP являются результатом сложения 11 оценок боли.

Термины "тест двигательных навыков Бруининкса-Озерецкого 2-го издания" и "BOT-2" второму контексте данного документа относятся ко изданию стандартизированного теста крупной и мелкой двигательной активности у пациента с нарушением минерализации костной ткани, таким как НРР (например, ребенка с НРР возрастом от приблизительно 5 до приблизительно 12 лет, подростка с НРР в возрасте от приблизительно 13 до приблизительно 17 лет или взрослого человека с НРР возрастом более чем приблизительно 18 лет или старше). См. Bruininks, R. H. (2005). Bruininks-Oseretsky Test of Motor Proficiency, (BOT-2). Minneapolis, MN: Pearson Assessment, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. ВОТ-2 применяют индивидуально для оценки навыков крупной и мелкой моторики у ряда пациентов. ВОТ-2, например, можно применять для оценки физических патологий и ограничений подвижности у пациентов с НРР, например, у детей с НРР в возрасте от приблизительно 5 лет до приблизительно 12 лет, у подростков с НРР возрастом от приблизительно 13 лет до приблизительно 17 лет или у взрослых с НРР возрастом более чем приблизительно 18 лет или старше. ВОТ-2 позволяет получить комплексные баллы по ВОТ-2 в следующих иллюстративных областях: сила, скорость бега и ловкость, точность мелкой моторики, согласованность мелкой моторики, ловкость рук, двухсторонняя координация, равновесие и координация верхних конечностей. Например, общий балл силы по ВОТ-2 можно определить, попросив пациента выполнить приседания, V-образные скручивания лежа, прыжок в длину с места, приседание у стены и отжимания. Общий балл скорости бега и ловкости можно определить, попросив пациента пройти по гимнастическому бревну или выполнить челночный бег, боковой прыжок на двух ногах или боковой прыжок на одной ноге. Общие баллы как общей силы по ВОТ-2, так и скорости бега и ловкости по ВОТ-2 варьируют от 0 до 25, при этом балл от 10 до 25 считается репрезентативным для здоровых субъектов.

Термин "каталитически компетентный" в контексте данного документа относится к sALP, которая гидролизует ингибитор минерализации костной ткани, представляющий собой неорганический пирофосфат (PPi), с получением неорганического фосфата (Pi), обеспечивая таким образом снижение внеклеточных концентраций PPi. Таким образом, каталитически компетентная sALP обеспечивает улучшение минерализации скелета в костной ткани, регулируя концентрацию PPi.

Термины "Опросный лист состояния здоровья ребенка" и "CHAQ" в контексте данного документа относятся к опроснику, который применяют для оценки состояния

здоровья (например, способности выполнять повседневные действия (ADL) и частоты возникновения боли) у пациента возрастом 1 года до 19 лет, такого как ребенок, подросток и взрослый с нарушением минерализации костной ткани, такой как HPP. Описание индекса СНАQ см. в Bruce & Fries (*J. Rheumatol*. 30(1): 167-178, 2003), которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. СНАQ можно применять путем интервьюирования или самостоятельного заполнения для детей старше 8 лет. СНАQ включает восемь подшкал для оценки одевания/ухода за собой, вставания на ноги, приема пищи, ходьбы, гигиены, способности дотягиваться, хвата и видов деятельности. Диапазон баллов в каждой категории составляет от 0 до 3, где балл 0 указывает на отсутствие какихлибо затруднений; балл 1 указывает на наличие некоторых затруднений; балл 2 указывает на наличие больших затруднений; и балл 3 указывают на то, что пациент не может выполнить данное действие. Индекс СНАQ также можно применять для определения наличия и степени тяжести боли.

Термины "пятипараметрический опросник EuroQol" и "EQ-5D" в контексте данного документа относятся к опроснику, который применяют для оценки состояния здоровья (например, подвижности, самообслуживания, способности осуществлять обычную школьную, рабочую деятельность или работу по дому, способности выполнять ADL (например, одевание, пользование туалетом и приготовление пищи), ощущения боли или дискомфорта и тревоги или депрессии) у пациентов, таких как дети с НРР возрастом от приблизительно 5 лет до приблизительно 12 лет, подростки с НРР возрастом от 13 лет до 17 лет или взрослые с НРР возрастом более чем приблизительно 18 лет или старше. Описание индекса EQ-5D см. в работе Reenan & Oppe (EQ-5D-3L User Guide Version 5.1, 2015), которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. EQ-5D может заполняться самостоятельно или заполняться лечащим врачом или в форме Опросник предусматривает параметров, интервью. EQ-5D следующие пять характеризующих состояние здоровья пациента с НРР: подвижность, самообслуживание, способность выполнять ADL, частота возникновения боли или дискомфорта, а также тревога или депрессия. Как описано в данном документе, ЕQ-5D можно применять в комбинации с по меньшей мере одной оценкой физического состояния, такой как 6МWT, для классификации пациента с НРР как имеющего состояние здоровья уровня І, указывающего на отсутствие проблем с физиологическим состоянием, уровня II, указывающего на наличие некоторых проблем с физиологическим состоянием, уровня III, указывающего на наличие серьезных проблем с физиологическим состоянием, или уровня IV, указывающего на наличие наиболее серьезных проблем с физиологическим состоянием. EQ-5D также можно применять как часть анализа для оценки перехода пациента с HPP из одного состояния здоровья в другое состояние здоровья, например, из состояния здоровья IV в III, IV в II, IV в I, III в II, III в I или II в I. Для оценки статуса здоровья пациентов с НРР также можно применять индекс оценки общего состояния здоровья ребенка -9D (CHU-9D). Описание индексов CHU-9D и EQ-5D см. в Stevens (Appl Health Econ Health Policy. 9(3): 157-69, 2011) и публикации согласно РСТ № WO 2018/191254, которые включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Термин "Fc" означает область кристаллизующегося фрагмента иммуноглобулина, например IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, содержащую домены CH2 и CH3 тяжелой цепи иммуноглобулина. Fc может также содержать любую часть шарнирной области, соединяющей Fab- и Fc-области. Fc может быть получена от любого млекопитающего, в том числе человека, и может быть подвергнута посттрансляционной модификации (например, путем гликозилирования). В неограничивающем примере Fc может представлять собой область кристаллизующегося фрагмента человеческого IgG1.

Под "фрагментом" подразумевают часть полипептида или молекулы нуклеиновой кислоты, которая содержит предпочтительно по меньшей мере 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или больше от всей длины эталонной молекулы нуклеиновой кислоты или эталонного полипептида. Фрагмент может содержать, например, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100 или больше нуклеотидов, вплоть до всей длины молекулы нуклеиновой кислоты, или 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 400, 500, 600, 700 или большее аминокислотных остатков, вплоть до всей длины полипептида.

Термины "ручная динамометрия" и "ННО", применяемые в данном документе взаимозаменяемо, относятся к способу измерения силы хвата и мышц субъекта, в частности, субъекта с НРР (например, субъекта возрастом приблизительно 13 лет или старше) или другим нарушением минерализации костной ткани. Динамометр можно применять для оценки силы хвата, сгибания ноги в коленном суставе, разгибания ноги в коленном суставе, сгибания ноги в тазобедренном суставе, разгибания ноги в тазобедренном суставе и отведения бедра у субъекта с НРР. Например, сгибание и разгибание ноги в коленном суставе, а также сгибание, разгибание ноги в тазобедренном суставе и отведение бедра у субъекта с НРР возрастом 13 лет или старше можно измерить с применением динамометра MICROFET2TM, тогда как силу хвата у субъекта можно измерить с применением, например, динамометра хвата JAMAR®. В частности, специалист удерживает динамометр неподвижно, а субъект прикладывает к динамометру максимальную силу. Данные по пиковой силе собирают в фунтах, а затем преобразуют в ньютоны (Н). Затем рассчитывают значения крутящего момента, используя значение длины конечности в Ньютон-метрах. Затем значение крутящего момента можно сравнить со значением, например, у нормального субъекта приблизительно того же возраста, того же пола и/или того же роста, и выразить в виде процентного значения для получения балла по HHD у субъекта.

Термин "состояние здоровья" в контексте данного документа относится к характеризуемому физиологическому состоянию пациента с HPP (например, ребенка с HPP

возрастом от приблизительно 5 лет до приблизительно 12 лет, подростка с НРР возрастом от приблизительно 13 лет до приблизительно 17 лет или взрослого с НРР возрастом более чем приблизительно 18 лет или старше) или другим нарушением минерализации костной ткани. Состояние здоровья пациента можно охарактеризовать с помощью по меньшей мере одной оценки физического состояния, выбранной из одного или нескольких из следующих метрических показателей: теста шестиминутной ходьбы (6MWT), теста двигательных навыков Бруининкса-Озерецкого 2-го издания (ВОТ-2), шкалы Бейли для оценки развития младенцев и детей дошкольного возраста 3-го издания (BSID-III), шкалы оценки мышечной силы, теста на ручном динамометре (HHD), шкал оценки моторного развития Peabody 2-го (PDMS-2), походки, краткой батареи физического издания анализа тестов функционирования (SPPB) и временного теста "встань и иди" (TUG), и/или по меньшей мере одной оценки качества жизни, выбранной из одного или нескольких из следующих метрических показателей: Пятипараметрического опросника EuroQol (EQ-5D), опросного листа состояния здоровья ребенка (СНАО), инструмента для сбора данных о результатах у детей (PODCI), индекса оценки общего состояния здоровья ребенка -9D (CHU-9D), инструментальной шкалы для оценки качества жизни у детей (PedsQL), шкалы оценки функций нижних конечностей (LEFS), краткой формы опросника состояния здоровья 36 (SF-36) и краткой формы опросника состояния здоровья 12 (SF-12). В частности, состояние здоровья пациента характеризуют, например, с помощью 6MWT в комбинации с EQ-5D. После получения результатов по меньшей мере одной оценки физического состояния и по меньшей мере одной оценки качества жизни, выбранных из вышеуказанных метрических показателей, пациент может быть определен как имеющий состояние здоровья уровня І, указывающего на отсутствие проблем с физиологическим состоянием, уровня II, указывающего на наличие некоторых проблем с физиологическим состоянием, уровня III, указывающего на наличие серьезных проблем с физиологическим состоянием, или уровня IV, указывающего на наличие наиболее серьезных проблем с физиологическим состоянием. Метрический показатель(показатели) можно применять для оценки перехода пациента из одного состояния здоровья в другое состояние здоровья после, например, лечения с помощью sALP, как описано в данном документе, например, перехода из состояния здоровья IV в III, IV в II, IV в I, III в II, III в I или II в I после введения sALP.

Термины "гипофосфатазия" и "HPP" в контексте данного документа относятся к редкому наследственному заболеванию скелета, обусловленному, например, одной или несколькими мутациями, обуславливающими потерю функции, в гене ALPL (щелочная фосфатаза, печень/кость/почка), который кодирует TNALP. HPP может быть дополнительно охарактеризована как младенческая HPP, детская HPP, перинатальная HPP (например, доброкачественная перинатальная HPP или летальная перинатальная HPP), одонто-HPP, подростковая HPP или HPP взрослого. Например, термин "детская HPP" описывает пациента с HPP возрастом от приблизительно 5 лет до приблизительно 12 лет, термин "подростковая HPP" описывает пациента с HPP возрастом от приблизительно 13 лет до приблизительно 17 лет, и термин "HPP взрослого" описывает пациента с HPP возрастом

приблизительно 18 лет или старше. Термин "НРР взрослого" в контексте данного документа относится к состоянию или фенотипу, характеризующемуся наличием одного или нескольких ИЗ следующих симптомов: повышенных уровней неорганического пирофосфата (РРі) в крови и/или моче, гипоминерализации, гиперкальциурии, одной или нескольких деформаций скелета, гипотонии, мышечной слабости, ревматоидных осложнений, переваливающейся походки, трудностей при ходьбе, боли в костях, боли, перелома кости, отложения кристаллов дигидрата пирофосфата кальция, псевдоподагры, артрита, пирофосфатной артропатии, хондрокальциноза, кальцифицирующего периартрита и псевдоперелома. Термин "подростковая НРР" в контексте данного документа относится к состоянию или фенотипу, характеризующемуся наличием одного или нескольких из следующих симптомов: повышенных уровней PPi, PEA или PLP в крови или моче; остеомаляции, одной или нескольких деформаций скелета, гипотонии, мышечной слабости, ревматоидных осложнений, артрита, псевдоподагры, переваливающейся походки, трудностей при ходьбе, боли в костях, боли, преждевременной потери зубов, гипоминерализации, гипоплазии легких, дыхательной недостаточности, судорожных приступов, гиперкальциурии, низкорослости и задержки роста. Термин "детская НРР" в контексте данного документа относится к относится к состоянию или фенотипу, характеризующемуся наличием одного или нескольких из следующих симптомов: повышенных уровней PPi, PEA или PLP в крови или моче; рахита, рахита ребер, одной или нескольких деформаций скелета, гипотонии, мышечной слабости, ревматоидных осложнений, артрита, псевдоподагры, переваливающейся походки, трудностей при ходьбе, боли в костях, боли, преждевременной потери зубов, гипоминерализации, задержки моторного развития, судорожных приступов, гиперкальциурии, низкорослости, перелома кости, псевдоперелома и задержки роста.

Термины "Шкала оценки функций нижних конечностей" и "LEFS", применяемые в данном документе взаимозаменяемо, относятся к способу измерения функциональной нетрудоспособности нижних конечностей у пациента, в частности у пациента с НРР (например, у пациентов возрастом приблизительно 13 лет или старше) или другим нарушением минерализации костной ткани. LEFS представляет собой средство для самооценки, описанное в работе Binkley et al. (Phys Ther. 79:371-83, 1999), которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Суммарные баллы по LEFS варьируют от 0 до 80, причем более высокие баллы указывают на лучшее функционирование нижних конечностей. Изменение балла по LEFS приблизительно на 9 единиц считается клинически значимым изменением. Лицензированный физиотерапевт может применять LEFS для пациента (например, пациента с HPP возрастом приблизительно 13 лет и старше) в формате интервью. Более высокие баллы по LEFS указывают на улучшение функционирования нижних конечностей, в том числе переходные движения (например, выход из ванны или перекатывание в постели), передвижение (например, ходьба или бег по неровной поверхности), подъем по лестнице и приседание. LEFS можно применять для оценки функциональной патологии одной или обеих нижних конечностей у

пациента, в том числе она обеспечивает возможность наблюдения за пациентом с течением времени и оценки эффективности лечения асфотазой альфа.

Термины "нуклеиновая кислота" или "молекула нуклеиновой кислоты" означают полимерную молекулу, например РНК или ДНК, содержащую последовательность из двух или более ковалентно связанных, встречающихся в природе или модифицированных нуклеотидов. Молекула нуклеиновой кислоты может быть, например, одноцепочечной или двухцепочечной и может включать модифицированные или немодифицированные нуклеотиды или их смеси или комбинации. Также включены различные соли, смешанные соли и формы свободной кислоты молекул нуклеиновых кислот.

Термины "Инструмент для сбора данных о результатах у детей" и "PODCI" в контексте данного документа относятся к опроснику, применяемому для оценки общего состояния здоровья, частоты возникновения боли и способности выполнять ADL у пациента возрастом до 19 лет, в частности у пациента с хроническим нарушением здоровья, такого как пациент с НРР или другими нарушениями минерализации костной ткани. Описание PODCI см. в работе Plint et al. (J. Pediatr. Orthop. 23(6): 788-790, 2003), которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Опросник может быть заполнен пациентом или родителем/опекуном пациента, знающим состояние пациента. Восемь шкал, созданных на основе PODCI, включают следующие: 1) шкалу для оценки функции верхних конечностей и физических функций для измерения затруднений, возникающих при осуществлении ежедневных действий по уходу за собой и обучению; 2) шкалу для оценки способности к перемещению и основной подвижности для измерения затруднений, испытываемых при осуществлении стандартных двигательных и моторных действий в ежедневных действиях; 3) шкалу для оценки возможности осуществления спортивных/физических функций для измерения затруднений или ограничений, возникающих при участии в более активных видах деятельности или занятиях спортом; 4) шкалу для оценки боли/комфорта для измерения уровня боли, испытываемого в течение последней недели; 5) шкалу для оценки ожиданий от лечения для измерения долгосрочных ожиданий от лечения; б) шкалу для оценки счастья для измерения общей удовлетворенности своей внешностью и ощущением сходства с друзьями и сверстниками; 7) шкалу для оценки удовлетворенности симптомами для измерения уровня принятия пациентом текущих ограничений, если это состояние на всю жизнь; и 8) глобальную шкалу для оценки возможности осуществления функций, представляющую собой общую комбинированную шкалу, рассчитанную на основе первых четырех перечисленных выше шкал. Стандартизированные баллы получают из серии вопросов в PODCI и преобразуют в шкалу от 0 до 100, в которой 0 представляет значительную степень нетрудоспособности, а 100 представляет наименьшую степень нетрудоспособности.

Термин "рекомбинантный белок" известен данной области техники. Рекомбинантный белок может представлять собой гликопротеин. Например, рекомбинантный белок или вариант рекомбинантного белка, полученный в клетке СНО, подвергается гликозилированию, в ходе которого на белок ковалентно присоединяются остатки сахара, и представляет собой гликопротеин. Вкратце, термин "рекомбинантный белок" может относиться к белку, который может быть получен с применением системы культивирования клеток. Клетки в системе культивирования клеток могут быть получены, например, из клетки млекопитающего, в том числе человеческой клетки, клетки СНО, клетки насекомого, дрожжевой клетки или бактериальной клетки. В целом, клетки в культуре клеток содержат введенную нуклеиновую кислоту, кодирующую представляющий интерес рекомбинантный белок (такая нуклеиновая кислота может переноситься на векторе, таком как плазмидный вектор). Нуклеиновая кислота, кодирующая рекомбинантный белок, также может содержать гетерологичный промотор, функционально связанный с нуклеиновой кислотой, кодирующей белок.

В контексте данного документа термины "тест шестиминутной ходьбы" и "6MWT" которая относятся оценке физического состояния, представляет собой стандартизированный тест для оценки способности к ходьбе у пациента с НРР (например, ребенка с НРР возрастом от приблизительно 5 лет до приблизительно 12 лет, подростка с НРР возрастом от приблизительно 13 лет до приблизительно 17 лет или взрослого с НРР возрастом более чем приблизительно 18 лет или старше) или другим нарушением минерализации костной ткани. В частности, способность к ходьбе относится к способности пациента поднимать и ставить каждую ногу по очереди. См. постановление Американского торакального общества: рекомендации по тесту шестиминутной ходьбы (Amer. J. of Respiratory and Critical Care Medicine, 166(1):111-7, 2002, которые включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте). 6MWT определяют по расстоянию (например, в метрах), которое пациент проходит по плоской твердой поверхности за период в шесть минут. Затем расстояние 6MWT можно сравнить с расстоянием 6MWT пациента на исходном уровне, расстоянием 6MWT у не подвергавшегося лечению субъекта (например, не подвергавшегося лечению субъекта приблизительно того же возраста, роста и/или пола) расстоянием 6MWT здорового субъекта (например, здорового субъекта приблизительно того же возраста, роста и/или пола) и выразить в процентах для определения значения 6MWT.

Под терминами "проводить лечение", "лечить" и "лечение" подразумевают обеспечение медицинского контроля пациента с целью излечения, облегчения тяжести, стабилизации, снижения вероятности или предупреждения развития болезненного состояния, такого как НРР (например, детской, подростковой НРР или НРР взрослого) или другого нарушения минерализации костной ткани, или одного или нескольких их симптомов и/или обеспечение контроля пациента, у которого проявляется или может иметься болезненное состояние, такое как НРР или другое нарушение минерализации костной ткани, например, путем введения фармацевтической композиции (например, описываемого в данном документе sALP). Данный термин предусматривает активное лечение, то есть лечение, направленное конкретно на обеспечение улучшения или явления, а также включает этиологическое лечение, то есть лечение, направленное на

устранение причины ассоциированного заболевания, патологического состояния, нарушения или явления. Кроме того, данный термин предусматривает паллиативное лечение, то есть лечение, предназначенное для ослабления или уменьшения по меньшей мере одного симптома, а не для излечения от заболевания, патологического состояния, нарушения или явления; симптоматическое лечение, то есть лечение, направленное на конституциональные симптомы ассоциированного заболевания, патологического состояния, нарушения или явления; превентивное лечение, то есть лечение, направленное на минимизацию или частичное или полное подавление развития ассоциированного заболевания, патологического состояния, нарушения или явления, например, у пациента, который еще не болен, но который является восприимчивым к развитию конкретного заболевания, патологического состояния, нарушения или явления, или иным образом находится в зоне риска развития таковых; и поддерживающее лечение, то есть лечение, применяемое в дополнение к другой конкретной терапии, направленное на обеспечение улучшения в отношении ассоциированного заболевания, патологического состояния, нарушения или явления.

Термины "пептид", "полипептид" и "белок" применяют взаимозаменяемо, и они относятся к любой цепи из двух или более природных или неприродных аминокислотных остатков, независимо от посттрансляционной модификации (например, гликозилирования или фосфорилирования), составляющих весь встречающийся в природе или не встречающийся в природе полипептид или пептид, который описан в данном документе, или часть такового.

Термины "sALP", "растворимая щелочная фосфатаза" и "внеклеточный домен щелочной фосфатазы" применяют взаимозаменяемо и они означают растворимую, не связанную с мембраной щелочную фосфатазу или ее домен, биологически активный фрагмент или биологически активный вариант. sALP включают, например, щелочную фосфатазу, у которой отсутствует С-концевая сигнальная последовательность GPI, и ее дополнительные варианты и аналоги, которые сохраняют активность щелочной фосфатазы, например, способность гидролизовать PPi или другие природные или искусственные субстраты. Сюда входит, если не указано иное, домен TNALP, PALP, GALP и IALP и их биологически активный фрагмент или биологически активный вариант. Зрелая sALP лишена мембранного якоря GPI и сигнального пептида, который отщепляется в ходе процессинга.

Термины "выделенный" или "очищенный" означает отделенный от других природных сопутствующих компонентов. Как правило, соединение (например, белок, полипептид, нуклеиновая кислота или малая молекула), фактор, клетка или другой компонент считаются выделенными, если они составляют по меньшей мере, например, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или даже 99% по весу, не содержат белков, антител, встречающихся в природе органических молекул и других компонентов, с которыми они ассоциированы в естественном состоянии. В некоторых случаях чистота компонента составляет по меньшей мере 75%, 90% или даже 99% по весу.

Выделенный компонент можно получить путем химического синтеза, выделения фактора из природных источников или получения компонента в рекомбинантной клетке-хозяине, которая в естественном состоянии не продуцирует данный компонент. Белки и малые молекулы могут быть очищены специалистом в данной области техники с применением стандартных методик, таких как описанные в работе Ausubel et al. (*Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York, 2000). Компонент предпочтительно чище исходного материала по меньшей мере, например, в 2, 5 или 10 раз, что измеряют с помощью, например, электрофореза в полиакриламидном геле, колоночной хроматографии, определения оптической плотности, HPLC-анализа или вестерн-блоттинга (Ausubel et al., 2000). Иллюстративными способами очистки являются колоночная хроматография, фильтрация, иммунопреципитация и иммуноаффинная очистка на магнитных микрогранулах.

"фармацевтически приемлемый носитель" или Термины "фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество" означают носитель или вспомогательное вещество, которые являются физиологически приемлемыми для подвергавшегося лечению пациента, сохраняя при этом терапевтические свойства соединения, с которым его вводят. иллюстративным фармацевтически приемлемым Одним носителем является физиологический раствор. Другие физиологически приемлемые носители и составы на их основе известны специалистам в данной области техники и описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences (Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22nd Ed., Allen, Ed. 2012).

Термин "фармацевтическая композиция" означает композицию, содержащую молекулу полипептида или нуклеиновой кислоты, которые описаны в данном документе, составленные с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, и включает одобрения композиции. изготовляемые или продаваемые государственного часть терапевтического режима для лечения регулирующего органа как предупреждения развития заболевания или явления у пациента. Фармацевтические композиции могут быть составлены, например, для подкожного введения, внутривенного введения (например, в виде стерильного раствора, не содержащего частиц эмбол, и в системе растворителей, подходящей для внутривенного введения), для перорального введения (например, таблетка, капсула, каплета, желатиновая капсула или сироп) или в виде любого другого состава, описанного в данном документе, например, в стандартной лекарственной форме.

Термины "субъект" и "пациент" применяют взаимозаменяемо, и они означают млекопитающее, в том числе без ограничения человека или отличного от человека млекопитающего, такого как крупный рогатый скот, лошадь, собака, овца или кошка.

Термин "клетка млекопитающего" известен в данной области техники и может относиться к любой клетке любого млекопитающего или полученной от любого млекопитающего, в том числе, например, человека, хомяка, мыши, зеленой мартышки, крысы, свиньи, коровы, хомяка или кролика. Клетка млекопитающего может быть

иммортализованной клеткой, дифференцированной клеткой или недифференцированной клеткой.

Термин "терапевтически эффективное количество" означает количество описанной в данном документе молекулы полипептида или нуклеиновой кислоты, достаточное для существенного лечения, предупреждения, отсрочки, подавления или купирования любого симптома заболевания или состояния, описанного в данном документе, в частности НРР. Терапевтически эффективное количество описываемой в данном документе композиции может зависеть от тяжести подвергавшегося лечению нарушения, а также от состояния, веса и самочувствия субъекта, и оно может быть определено специалистом средней квалификации в данной области техники с учетом таких факторов. Терапевтически эффективное количество описываемой в данном документе композиции можно вводить субъекту в виде однократной дозы или в виде многократных доз, вводимых в течение определенного периода времени.

В контексте данного документа, если последовательность полипептида или нуклеиновой кислоты упоминаются как характеризующиеся "по меньшей мере Х% идентичностью последовательности" с эталонной последовательностью, это означает, что по меньшей мере X процентов аминокислотных остатков или нуклеотидов в полипептиде или нуклеиновой кислоте идентичны таковым в эталонной последовательности при оптимальном последовательностей. Оптимальное выравнивании выравнивание последовательностей определить способами, онжом различными известными специалистам в данной области техники, например, с помощью алгоритма выравнивания Смита-Уотермана (Smith et al., J. Mol. Biol. 147:195-7, 1981) и BLAST (средства поиска основного локального выравнивания; Altschul et al., J. Mol. Biol. 215: 403-10, 1990). Эти и другие алгоритмы выравнивания доступны с помощью общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как "Best Fit" (Smith and Waterman, Advances in Applied *Mathematics*, 482-489, 1981), которое включено в GeneMatcher Plus™ (Schwarz and Dayhof, Atlas of Protein Sequence and Structure, Dayhoff, M. O., Ed., pp 353-358, 1979), BLAST, BLAST-2, BLAST-P, BLAST-N, BLAST-X, WU-BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2, CLUSTAL или Megalign (DNASTAR). Кроме того, специалисты в данной области техники смогут определить соответствующие параметры для измерения выравнивания, в том числе любые алгоритмы, необходимые для достижения оптимального выравнивания по длине сравниваемых последовательностей.

В контексте данного документа термин "предварительно определенный порог" относится к значению метрического показателя у субъекта относительно контрольного значения (например, значения метрического показателя у нормального субъекта, например, у субъекта без нарушения минерализации костной ткани (например, HPP), у субъекта с заболеванием, которого подвергали лечению с помощью sALP, или у субъекта с заболеванием, которого еще не подвергали лечению с помощью sALP). Нормальный или подвергавшийся лечению субъект может иметь такой же или схожий возраст, вес и/или пол. Предварительно определенный порог может относиться к значению метрического

показателя, которое находится между измеренным значением у субъекта с нарушением минерализации костной ткани и соответствующим значением у нормального субъекта. Например, если у субъекта с нарушением минерализации костной ткани определено, что он характеризуется баллом, составляющим 50 шагов, по метрическому показателю 6MWT, и нормальный субъект по данному метрическому показателю характеризуется баллом, составляющим 500 шагов, то предварительно определенный порог может представлять собой значение, которое находится в диапазоне от 50 шагов до 500 шагов. Предварительно определенный порог также может представлять собой значение метрического показателя, которое, например, на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или больше ниже значения для нормального или подвергавшегося лечению субъекта. Альтернативно, предварительно определенный порог может представлять собой значение метрического показателя, которое скорректировано для отражения балла субъекта, подвергавшегося лечению посредством sALP, таким образом, чтобы заданное пороговое значение стало значением метрического показателя, которое на по меньшей мере, например, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% больше, чем исходное значение метрического показателя у субъекта, например, до лечения посредством sALP.

Слова "предпочтительный" и "предпочтительно" относятся к вариантам осуществления раскрытых полипептидов, композиций и способов, которые могут обеспечивать определенные преимущества при определенных обстоятельствах. Однако при тех же или других обстоятельствах предпочтительными также могут быть и другие варианты осуществления. Более того, указание одного или нескольких предпочтительных вариантов осуществления не означает, что применимыми не являются другие варианты осуществления, и не подразумевается исключение других вариантов осуществления из объема настоящего изобретения.

В случае любого раскрытого в данном документе способа, который включает отдельные стадии, стадии можно осуществлять в любом допустимом порядке; также, при необходимости, любую комбинацию двух или более стадий можно осуществлять одновременно.

Приведенное выше краткое описание настоящего изобретения не предназначено для описания каждого раскрытого варианта осуществления или каждого варианта реализации раскрытых полипептидов, композиций и способов. В нижеследующем описании более подробно продемонстрированы иллюстративные варианты осуществления. В некоторых местах настоящей заявки могут быть даны рекомендации в виде перечней примеров, которые можно использовать в различных комбинациях. В каждом случае приведенный перечень служит только репрезентативной группой и не должен интерпретироваться как исключительный перечень.

Все заголовки предназначены для удобства читателя и не должны использоваться для ограничения смысла текста, следующего за заголовком, если только не указано иное.

Другие признаки и преимущества настоящего изобретения будут очевидны из подробного описания, графических материалов и формулы изобретения.

### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На фиг. 1 показано схематическое изображение дизайна исследования, описанного в примере 2. Группу 1 рандомизируют для приема асфотазы альфа в дозе, составляющей 6 мг/кг/неделя, на исходном уровне и продолжают прием по 6 мг/кг/неделя с недели 12 до конца лечения (неделя 36). Группу 2 рандомизируют для приема асфотазы альфа в дозе, составляющей 6 мг/кг/неделя, на исходном уровне, и группа переходит на прием по 3,6 мг/кг/неделя с недели 12 до конца лечения (неделя 36). АА означает асфотазу альфа; НРР означает гипофосфатазию; qw означает раз в неделю.

На фиг. 2A - 2D представлены графики, изображающие физическую функцию (фиг. 2A - 2C) и оценку HRQoL (фиг. 2D) среди взрослых, подвергавшихся лечению посредством асфотазы альфа по поводу HPP с началом в детском возрасте, согласно данным, собранным на исходном уровне, через 6 месяцев и 12 месяцев. А) тест шестиминутной ходьбы (6MWT), n=12 B) тест подъема со стула (часть SPPB, n=9), C) LEFS (n=9), D) баллы PCS, оцениваемые по SF-36v2 (п=9); звездочками обозначена статистическая значимость по сравнению с исходным уровнем.

На фиг. 3A - 3D представлен набор графиков, изображающих первичные результаты физической функции, оцениваемые по расстоянию 6MWT (фиг. 3A), времени теста TUG (фиг. 3B), скорости 4-минутной ходьбы (фиг. 3C) и тесту повторного подъема со стула (фиг. 3D) среди взрослых, которых подвергали лечению посредством асфотазы альфа по поводу HPP с началом в детском возрасте на исходном уровне, через 12, 18 и 24 месяца лечения. \*p <0,05 по сравнению с исходным уровнем. Нижней и верхней границами синих прямоугольников представлены 25-й и 75-й процентили соответственно. Горизонтальными черными линиями представлено медианное и "усами"

представлены максимальные и минимальные значения. 6MWT (n=13); тест TUG (n=7); скорость 4-минутной ходьбы (n=9); повторный подъем со стула (n=8). 6MWT означает тест 6-минутной ходьбы; HPP означает гипофосфатазию; IQR означает межквартильный размах; SPPB означает краткую батарею тестов физического функционирования; TUG означает временной тест "встань и иди".

На фиг. 4А - 4D представлен набор графиков, изображающих вторичные результаты измерений регистрируемых пациентами физической функции и бремени заболевания, оцениваемые с помощью LEFS (фиг. 4A), SF-36v2 (фиг. 4B и 4C) и опросника по изучению интенсивности боли (фиг. 4D) среди взрослых с HPP в детском возрасте, подвергавшихся лечению посредством асфотазы альфа по поводу HPP с началом в детском возрасте на исходном уровне, через 12, 18 и 24 месяца лечения. \*p <0,05 по сравнению с исходным уровнем. Нижней и верхней границами синих прямоугольников представлены 25-й и 75-й процентили соответственно. Горизонтальными черными линиями представлено медианное значение, и "усами" представлены максимальные и минимальные значения. Балл по LEFS (n= 10), PCS (n=9), MCS (n=9), опросник по изучению интенсивности боли: исходный уровень (n= 13), через 3 месяца (n= 11), 6 месяцев (n= 11), 12 месяцев (n= 13), 24 месяца (n= 5). HPP означает гипофосфатазию; LEFS означает шкалу функций нижних конечностей;

MCS означает обобщение психического компонента; PCS означает обобщение физического компонента; SF-36v2 означает краткую форму опросника состояния здоровья из 36 пунктов, версия 2.

На фиг. 5 представлен график, на котором изображены еженедельные изменения дозы асфотазы альфа (мг/кг веса тела).

На фиг. 6 представлен график, на котором изображены еженедельные изменения дозы асфотазы альфа (мг/кг идеального веса тела).

На фиг. 7 представлен график, на котором изображены данные 6MWT, как на фиг. 3A, до 30 месяцев.

На фиг. 8A и 8B представлены графики, на котором изображены среднее время теста ходьбы на 4 м (фиг. 8A) и средняя скорость (фиг. 8B), как на фиг. 3C, до 30 месяцев.

На фиг. 9 представлен график, на котором изображены данные теста повторного подъема со стула, как на фиг. 3D, до 30 месяцев.

На фиг. 10 представлен график, на котором изображены данные времени теста TUG, как на фиг. 3B, до 30 месяцев.

На фиг. 11A и 11B представлены графики, на которых изображена сила хвата доминирующей (фиг. 11A) и недоминирующей (фиг. 11B) рукой до 30 месяцев.

На фиг. 12 представлен график, на котором изображены баллы по SF-36v2 (PCS), как на фиг. 4B, до 30 месяцев.

На фиг. 13 представлен график, на котором изображены уровни боли, как на фиг. 4D, до 30 месяцев.

На фиг. 14 представлен график, на котором изображены баллы по LEFS, как на фиг. 4A, до 30 месяцев.

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Предусмотрены способы проведения лечения нарушений минерализации костной ткани, таких как гипофосфатазия (HPP), и их симптомов. HPP представляет собой редкое наследственное заболевание скелета с частотой 1 случай на 100000 новорожденных для наиболее тяжелых форм заболевания. Нарушение, как правило, возникает в результате мутаций, обуславливающих потерю функции, в гене, кодирующем TNALP. При HPP проявляется широкий спектр симптомов и степеней тяжести, от преждевременной потери зубов до почти полного отсутствия минерализации костной ткани во время внутриутробного развития. Проявление HPP заметно различается среди субъектов, а также заметно различается в зависимости от возраста субъектов. У многих субъектов с HPP отмечаются изменения скелета, низкорослость, хроническая боль, боль в нижних конечностях, нарушение походки и преждевременная атравматичная потеря зубов. Вследствие мутаций, обуславливающих потерю функции, в эндогенной TNALP субъект с HPP нуждается в восстановлении природной активности ALP для обеспечения нормальной минерализации костного матрикса.

В связи с разнообразием фенотипов и степени тяжести у субъектов можно применять разные метрические показатели для оценки или наблюдения статуса заболевания

(например, до, во время и после лечения). В частности, некоторые из данных метрических показателей являются специфичными, например, специфичными для младенцев или взрослых. Например, рентгенологические изменения, такие как минерализация скелета, можно наблюдать у младенцев по мере роста новых костей в процессе развития. Однако взрослый с умеренным фенотипом может проявлять нормальные или почти нормальные Таким образом, для эффективного наблюдения характеристики минерализации. эффективности лечения у данных разных пациентов может потребоваться другой метрический показатель. Один такой тип пациента включает взрослых пациентов (т. е. лиц в возрасте 18 лет и старше), у которых наблюдается снижение качества жизни и/или хроническая нетрудоспособность вследствие костных или мышечных проявлений заболевания. Симптомы у взрослых пациентов включают, например, переломы и псевдопереломы, хроническую боль, мышечную слабость, гипотонию и/или низкую физическую выносливость. Иногда для взрослого пациента могут быть затруднительны простые ежедневные действия, такие как сидение, вставание или ходьба. В данном документе предусмотрены способы лечения, которые включают наблюдение изменений биохимических, физических метрических показателей и/или метрических показателей качества жизни с целью установления режима лечения для пациента с нарушением минерализации костной ткани, таким как НРР, и, в частности, для взрослого пациента с HPP.

#### Способы лечения

Описанные в данном документе способы включают проведение лечения нарушения минерализации костной ткани у человека-субъекта. Субъект может характеризоваться уровнем по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя (или их комбинации), метрического показателя качества жизни или костной ткани, который позволяет определить субъекта как нуждающегося в лечении нарушения минерализации костной ткани. Способ может включать введение по меньшей мере одной дозы sALP субъекту на первой фазе лечения режима лечения; наблюдение субъекта во время первой фазы лечения на предмет изменений по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани и обнаружение улучшения по меньшей мере одного биохимического, физического показателя, показателя качестве жизни или костной ткани. Улучшение может быть выше предварительно определенного порога метрического показателя (например, улучшение на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или больше относительно исходного значения метрического показателя у субъекта до лечения). Если у субъекта наблюдается улучшение, то субъект может затем войти в первую фазу без лечения режима лечения, во время которой субъекту не вводят sALP. Во время фазы без лечения способ может дополнительно включать наблюдение субъекта во время первой фазы без лечения в течение некоторого периода времени на предмет изменений по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани. Если у субъекта наблюдается уменьшение измеренного значения

метрического показателя, например, уменьшение до или ниже предварительно определенного порога (например, снижение на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или больше значения метрического показателя относительно предварительно определенного порога), то режим лечения может быть повторно начат (например, субъекту вводят по меньшей мере одну дозу sALP во второй или последующей фазе лечения режима лечения). Данные стадии можно повторять один или несколько раз, при этом эффективность контролируют (например, непрерывно или периодически) на протяжении всего курса режима лечения. Хотя предварительно определенный порог можно применять в качестве граничного значения для оценки того, следует ли вводить sALP или нет во время конкретной фазы режима лечения, специалисту в данной области техники будет понятно, что лечение можно продолжить или прекратить, несмотря на уменьшение ниже или увеличение выше предварительно определенного порога. Например, может быть желательно возобновить ведение доз до того, как балл по силе в ВОТ-2 уменьшится ниже предварительно определенного порога, во избежание уменьшения ниже предварительно определенного порога значения метрического показателя у субъекта (например, лечение можно повторно начать до того, как значение метрического показателя достигнет значения, которое на 1%, 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% или 30% или больше превышает предварительно определенный порог).

## Оценка эффективности лечения

Лечение нарушения минерализации костной ткани (как, например, при НРР, в том например, перинатальной НРР, младенческой НРР, детской числе, одонтогипофосфатазии и HPP-подобном заболевании, CPPD и семейной гипофосфатемии, описанных в данном документе) можно проводить с помощью щелочной фосфатазы или полипентида, обладающего активностью щелочной фосфатазы (например sALP, например, полипентид, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или вариант полипептида, характеризующийся ПО меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа). Описанные в данном документе способы также применимы для диагностики или наблюдения субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, определения субъекта как имеющего нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или предрасположенного к развитию такового, или тестирования эффективности лечения нарушения минерализации костной ткани, такого как НРР. Например, у субъекта может быть диагностировано наличие нарушения минерализации костной ткани, такого как НРР, или предрасположенность к развитию такового, если субъект характеризуется наличием определенных характерных биомаркеров или балла(баллов) по системам измерения. Субъекта можно подвергать лечению с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы (например, sALP, например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), и эффективность или

эффекты лечения можно проанализировать с применением характерных биомаркеров или балла(баллов) по системам измерения. Предварительно определенный балл по системам измерения может включать характерный предварительно определенный порог, при этом увеличение выше или уменьшение ниже порога указывает на необходимость прекращения или начала введения sALP.

Иллюстративные метрические показатели, применимые для оценки эффективности лечения с применением sALP (такой как TNALP, например, слитого полипептида, содержащего sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или варианта полипептида, характеризующегося по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотазы альфа), включают биохимические метрические показатели, физические метрические показатели, метрические показатели качества жизни и метрические показатели костей. Биохимические метрические показатели включают контроль субстратов sALP, таких как концентрации PPi, PEA и PLP, в сыворотке крови, плазме крови, костной или мышечной тканях или в моче субъекта. Физические метрические показатели включают оценки, такие как тест шестиминутной ходьбы (6МWT), тест двигательных навыков Бруининкса-Озерецкого 2-го издания (ВОТ-2), шкала Бейли для оценки развития младенцев и детей дошкольного возраста 3-го издания (BSID-III), шкала оценки мышечной силы, тест на ручном динамометре (HHD), шкалы оценки моторного развития Peabody 2-го издания (PDMS-2), анализ походки, временной тест "встань и иди" (TUG) и краткая батарея тестов физического функционирования (SPPB). SPPB может включать тесты, такие как тест повторного вставания со стула. Способы могут включать слежение за метрическими показателями, такими как уменьшение зависимости от вспомогательных устройств (например, кресел-колясок, ходунков на колесиках и тростей). Физические метрические показатели можно контролировать с помощью нательного устройства, такого как устройство, которое отслеживает шаги (например, шагомер), физическую активность, частоту сердечных сокращений (например, пульсометр) и/или характер сна. Метрические показатели костной ткани предусматривают наблюдение морфологии костной ткани, регенерации костной ткани, минерализации костной ткани и минеральной плотности кости. Метрические показатели качества жизни включают такие оценки, как пятипараметрический опросник EuroQol (EQ-5D), опросный лист состояния здоровья ребенка (CHAQ), инструмент для сбора данных о результатах у детей (PODCI), индекс оценки общего состояния здоровья ребенка -9D (CHU-9D), инструментальной шкалы для оценки качества жизни у детей (PedsQL), шкала оценки функций нижних конечностей (LEFS), краткая форма опросника состояния здоровья 36 (SF-36) и краткая форма опросника состояния здоровья 12 (SF-12). Способы могут дополнительно включать применение одного или нескольких из описанных метрических показателей (например, регенерации костной ткани, минерализации костной ткани, минеральной плотности костной ткани или концентраций PPi и PLP в плазме крови, физических метрических показателей и метрических показателей качества жизни) по отдельности или в комбинации для оценки эффективности лечения, при этом улучшения, описанные в данном документе,

демонстрируют, что sALP является эффективным средством лечения подвергавшегося лечению состояния. Кроме того, способ может дополнительно включать прекращение лечения, если способы эффективны для лечения нуждающегося в этом субъекта. Более того, способы могут предусматривать изменение дозировки и/или частоты введения sALP (например, SEQ ID NO: 1; например, асфотазы альфа) с целью определения эффективного количества sALP для введения нуждающемуся в этом субъекту. Если субъект не проходит лечение в течение определенного периода времени в рамках режима лечения, субъекта можно наблюдать в различные моменты времени для оценки, следует ли возобновить лечение или субъект должен оставаться в фазе без лечения. Данные метрические показатели более подробно описаны ниже.

## Регенерация и минерализация костной ткани

Субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, можно определить для лечения с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы (например sALP, например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним) в зависимости от уровня минерализации костной ткани. Например, минерализацию костной ткани можно применять в качестве метрического показателя для диагностики субъекта как имеющего нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или для тестирования эффективности описываемого в данном документе полипептида. У субъекта с нарушением минерализации костной ткани (например, HPP) введение sALP приводит в результате к улучшению регенерации костной ткани у субъекта после успешного лечения.

Ухудшение регенерации костной ткани приводит в результате к потере костной ткани и предусматривает снижение минерализации, что приводит в результате к разъединению двух или более костей. Регенерация костной ткани и снижение минерализации можно сравнивать с эталонной костной тканью. Способы идентификации снижения регенерации и минерализации костной ткани являются стандартными и включают неинвазивные методики, такие как рентгенография и компьютерная томография (СТ). Как правило, изображения соответствующей площади у субъекта можно получить до и в один или несколько моментов времени после лечения посредством sALP и можно произвести сравнение данных изображений с целью оценки эффективности лечения. Ухудшение регенерации и/или минерализации костной ткани можно определить по уменьшению непрозрачности. Изображения можно получать в любой момент времени в ходе лечения с помощью sALP, и время их получения может составлять, например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 дней, недель, месяцев или лет после начала ERT-лечения с помощью sALP, или при подозрении на снижение эффективности. Ухудшение регенерации и/или снижение минерализации костной ткани у субъекта может стать поддающимся выявлению по меньшей мере через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 недель или месяцев после начала периода лечения с помощью sALP. Ухудшение регенерации костной ткани и/или снижение

минерализации у субъекта может в некоторых случаях сохраняться в течение по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 недель, месяцев или лет после начала периода ERT-лечения с помощью sALP. Улучшение регенерации костной ткани и увеличение минерализации костной ткани можно применять для определения того, что эффективность sALP восстанавливается, а нарушение минерализации костной ткани (например, HPP) эффективно лечится после терапии. Если регенерация и минерализация костной ткани увеличиваются до или выше предварительно определенного порога, введение sALP может быть остановлено. Тем не менее, уровни минерализации можно периодически контролировать с целью определения, следует ли повторно начать введение.

Минеральная плотность костной ткани (ВМД)

Субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, можно определить для лечения с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы (например sALP, например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере с 85% идентичностью последовательности с ним) в зависимости от уровня ВМD. Снижение ВМD (например, относительно нормального субъекта) можно применять в качестве диагностики субъекта как метрического показателя для имеющего нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР.

Уменьшение BMD можно применять для контроля эффективности sALP (например, полипентида с последовательностью под SEQ ID NO: 1) в ходе ERT. Способы измерения известны из уровня техники и включают, например, биопсию кости, двухэнергетическую рентгеновскую абсорбциометрию (DXA или DEXA), периферическую количественную СТ (pQCT), pQCT с высоким разрешением (HR-pQCT) и количественное ультразвуковое исследование (QUS). Измерения можно проводить любым стандартным способом, в том числе путем СТ-измерения по Хаунсфилду, а также можно производить сравнение результатов с нормативной базой данных или с контрольным субъектом. ВМD иногда называют Z-баллом или Т-баллом. Значения ВМD до лечения можно измерить в любой момент времени во время ERT-лечения с помощью sALP и можно разделить по времени интервалами, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 дней, недель, месяцев лет после начала ERT с помощью sALP. Значение BMD в контрольной точке после лечения может уменьшиться, например, на 0,01%, 0,05%, 0,1%, 0,5% или 1%. Значения ВМD в контрольной точке после начала лечения с помощью sALP также может оставаться без изменений, или изменение не поддается обнаружению. Увеличение BMD костной ткани выше предварительно определенного порога можно применять для определения того, что эффективность sALP восстанавливается, а нарушение минерализации костной ткани (например, НРР) эффективно лечится после терапии. В случае восстановления субъект может прекратить лечение и периодически наблюдаться на предмет изменений ВМD. Если уровень ВМD уменьшается ниже предварительно определенного порога, то терапию можно повторно начать.

Концентрации неорганического пирофосфата (PPi) и щелочной фосфатазы (ALP) в плазме крови

Субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, можно определить для лечения с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы (например sALP, например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% последовательности с ним), путем определения неорганического пирофосфата (РРі) и/или щелочной фосфатазы (ALP) в образце, таком как образец плазмы крови или мочи, полученном от субъекта. Для количественной оценки концентраций PPi и/или ALP в образце плазмы крови или, альтернативно, в образце мочи можно применять любой способ, известный специалистам в данной области техники, как подробно описано в работе Whyte et al., 1995 (J. Clin. Invest. 95(4): 1440-1445), которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Способы количественной оценки концентраций РРі в образце плазмы крови или мочи также описаны в работах Cheung et al., 1977 (Anal. Biochem. 83: 61-63), Cook et al., 1978 (Anal. Biochem. 91: 557-565) и Johnson et al, 1968 (Anal. Biochem. 26: 137-145), каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

В частности, щелочную фосфатазу или полипептид, обладающий активностью щелочной фосфатазы (например, sALP, например, полипептид, характеризующийся последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его вариант с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), можно вводить субъекту, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, у которого было ранее определено наличие РРі в плазме крови в концентрации, составляющей не более приблизительно 6 мкМ (например, приблизительно 4,5 мкМ, приблизительно 5 мкМ или приблизительно 5,5 мкМ, или РРі в плазме крови в концентрации, находящейся в диапазоне от приблизительно 4,5 мкМ до приблизительно 6 мкМ). Например, щелочную фосфатазу или полипептид, обладающий активностью щелочной фосфатазы, вводят, например, младенцу или ребенку (например, субъекту возрастом менее приблизительно 12 лет) с концентрацией РРі в плазме крови, составляющей приблизительно 13 до приблизительно 18 лет) с концентрацией РРі в плазме крови, составляющей приблизительно 4,78 мкМ или больше.

В частности, щелочную фосфатазу или полипептид, обладающий активностью щелочной фосфатазы, вводят взрослому (например, субъекту старше приблизительно 18 лет) с концентрацией РРі в плазме крови, составляющей приблизительно 5,82 мкМ или больше.

Кроме того, щелочную фосфатазу или полипептид, обладающий активностью щелочной фосфатазы, можно вводить субъекту (например, человеку), у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который предрасположен к

развитию такового, у которого предварительно было определено наличие ALP в плазме крови в концентрации, например, приблизительно 90 ед./л или меньше в случае субъекта возрастом от 0 до 14 дней; приблизительно 134 ед./л или меньше в случае субъекта возрастом от 15 дней до менее 1 года; приблизительно 156 ед./л или меньше в случае субъекта возрастом от приблизительно 1 года до менее 10 лет; приблизительно 141 ед./л или меньше в случае субъекта возрастом от приблизительно 10 лет до менее чем приблизительно 13 лет; приблизительно 62 ед./л или меньше в случае субъекта женского пола возрастом от приблизительно 13 лет до менее чем приблизительно 15 лет; приблизительно 127 ед./л или меньше в случае субъекта мужского пола возрастом от приблизительно 13 лет до менее чем приблизительно 15 лет; приблизительно 54 ед./л или меньше в случае субъекта женского пола возрастом от приблизительно 15 до менее чем приблизительно 17 лет; приблизительно 89 ед./л или меньше в случае субъекта мужского пола возрастом от приблизительно 15 лет до менее чем приблизительно 17 лет; приблизительно 48 ед./л или меньше в случае субъекта женского пола возрастом приблизительно 17 лет или старше; или приблизительно 59 ед./л или меньше в случае субъекта мужского пола возрастом приблизительно 17 или старше.

Концентрацию PPi в плазме крови и/или концентрацию ALP в плазме крови у субъекта (например, человека), у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, можно сравнить с концентрацией РРі в плазме крови и/или АLР в плазме крови у нормального субъекта для определения эффекта лечения у субъекта, которому вводят щелочную фосфатазу или полипептид, обладающий активностью щелочной фосфатазы (например, sALP, например, полипентид, характеризующийся последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его вариант с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним). В частности, щелочную фосфатазу или полипептид, обладающий активностью щелочной фосфатазы, можно вводить в течение периода лечения, составляющего по меньшей мере один год (например, по меньшей мере два года, по меньшей мере три года, по меньшей мере четыре года, по меньшей мере пять лет, по меньшей мере шесть лет, по меньшей мере семь лет, по меньшей мере восемь лет, по меньшей мере девять лет, по меньшей мере десять лет или дольше десяти лет, например, в течение всей жизни субъекта). Альтернативно, способы могут включать определение концентрации РРі в плазме крови и/или концентрации ALP в плазме крови до введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, для оценки у субъекта эффекта лечения с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы.

Данные способы приводят к снижению концентрации PPi и/или увеличению концентрации ALP в образце (например, образце плазмы крови), полученном от субъекта (например, субъекта-человека), у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который предрасположен к развитию такового. Например, лечение с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы (например, sALP, например, полипептида, характеризующегося

последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), приводит в результате к уменьшению концентрации PPi в образце (например, образце плазмы крови), полученном от субъекта, на приблизительно 1 мкМ, приблизительно 1,5 мкМ, приблизительно 2 мкМ, приблизительно 2,5 мкМ или приблизительно 3 мкМ или 25% или больше (например, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60% или более 60%). Таким образом, после введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, у субъекта наблюдается наличие PPi в плазме крови в концентрации, составляющей, например, от приблизительно 2 мкМ до приблизительно 5 мкМ, от приблизительно 3 мкМ до приблизительно 5 мкМ, от приблизительно 4 мкМ или от приблизительно 2 мкМ до приблизительно 3 мкМ.

Аналогично, лечение с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, приводит в результате к увеличению концентрации ALP в образце (например, образце плазмы крови), полученном от субъекта (например, человека), у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, на 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60% или более 60%, относительно субъекта до введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы. Например, введение щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, увеличивает концентрацию ALP в образце (например, образце плазмы крови), полученном от субъекта, до, например, приблизительно 273 ед./л или больше в случае субъекта возрастом от 0 до 14 дней; приблизительно 518 ед./л или больше в случае субъекта возрастом от 15 дней до менее 1 года; приблизительно 369 ед./л или больше в случае субъекта возрастом от приблизительно 1 года до менее 10 лет; приблизительно 460 ед./л или больше в случае субъекта возрастом от приблизительно 10 лет до менее чем приблизительно 13 лет; приблизительно 280 ед./л или больше в случае субъекта женского пола возрастом от приблизительно 13 лет до менее чем приблизительно 15 лет; приблизительно 517 ед./л или больше в случае субъекта мужского пола возрастом от приблизительно 13 лет до менее чем приблизительно 15 лет; приблизительно 128 ед./л или больше в случае субъекта женского пола возрастом от приблизительно 15 до менее чем приблизительно 17 лет; приблизительно 365 ед./л или больше в случае субъекта мужского пола возрастом от приблизительно 15 лет до менее чем приблизительно 17 лет; приблизительно 95 ед./л или больше в случае субъекта женского пола возрастом приблизительно 17 лет или старше; или приблизительно 164 ед./л или больше в случае субъекта мужского пола возрастом приблизительно 17 или старше.

Уменьшение концентрации PPi в плазме крови и/или увеличение концентрации ALP у субъекта (например, человека), у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который предрасположен к развитию такового, может сохраняться в течение всего периода введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы (например, sALP, например, полипептида,

характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним). Например, концентрация PPi в плазме крови уменьшается на приблизительно 25% и остается на уровне  $\pm 10\%$  от уменьшенной концентрации PPi в плазме крови в ходе лечения с помощью sALP, и/или концентрация ALP в плазме крови увеличивается на приблизительно 50% и остается на уровне  $\pm 10\%$  от увеличенной концентрации ALP в плазме крови в ходе лечения с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы.

Альтернативно, если введение щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего фосфатазы (например, активностью щелочной sALP, например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), не приводит в результате к среднему уменьшению концентраций РРі в образце плазмы крови, полученном от субъекта (например, человека), у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, на приблизительно 25% или больше, дозировку и/или частоту введения sALP можно изменить с целью определения эффективного количества sALP для субъекта. Аналогично, если введение щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, не приводит в результате к среднему увеличению концентраций ALP в образце плазмы крови, полученном от субъекта, на приблизительно 50% или больше, дозировку и/или частоту введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, можно изменить с целью определения эффективного количества щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, для субъекта. Например, дозировку щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, можно увеличить с, например, приблизительно 0,5 мг/кг/неделя или приблизительно 3,5 мг/кг/неделя до приблизительно 3-6 мг/кг/неделя или приблизительно 6-9 мг/кг/неделя. Если требуемые уровни PPi или ALP достигнуты, то субъект может прекратить лечение и периодически наблюдаться на предмет изменений уровней РРі или ALP. Например, если уровни РРі увеличиваются выше и/или уровни ALP уменьшаются ниже предварительно определенного порога, то терапию можно повторно начать.

## Краткая батарея тестов физического функционирования (SPPB)

SPPB разработана для измерения функционального состояния и физических показателей. Она представляет собой комплексное измерение, которое оценивает скорость ходьбы, равновесие в положении стоя и выполнение теста "сядь и встань" (STS). SPPB рассчитывают на основе 3 компонентов: способности стоять в течение периода до 10 секунд с 3-мя положениями ног (стопы параллельно друг с другом, стопы перпендикулярно и стопы последовательно); времени для выполнения 3-х или 4-х метровой ходьбы и времени подъема со стула 5 раз (т. е. тест повторного вставания со стула). Тесты на равновесие в положении стоя оценивают в баллах на основании способности сохранять равновесие в каждой из этих позиций. Скорость ходьбы и тесты STS оценивают в баллах, во-первых, по

способности выполнять задания, а во-вторых, по времени, затраченному на выполнение каждого задания. Каждое задание оценивают по 4 баллам, при этом баллы за 3 теста суммируют, что дает в общей сложности максимум 12 и минимум 0. Более высокий балл указывает на более высокий уровень функции, тогда как более низкий балл указывает на более низкий уровень функции. Было показано, что более низкие баллы по SPPB являются прогнозом увеличенного риска падений, утраты независимости от ADL, уменьшения подвижности, нетрудоспособности, ухудшения состояния здоровья, повторной госпитализации и увеличения продолжительности пребывания в больнице, госпитализации в дома престарелых и смерти. Изменение по SPPB на 0,5 пункта считается небольшим значимым изменением, в то время как изменение по SPPB на 1 пункт считается существенным значимым изменением.

Тест повторного вставания со стула предусматривает активацию множества мышц нижней конечности, главным образом мышц-разгибателей колена (четырехглавой мышцы бедра). Тест повторного вставания со стула применяли в качестве самостоятельной оценки (например, упражнение STS), которая широко применяется в качестве измерения силы нижних конечностей.

Балл по SPPB у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который является предрасположенным к развитию такового, можно применять для оценки эффективности лечения с применением щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), при этом улучшения балла в определенном тесте свидетельствуют о том, что щелочная фосфатаза или полипептид, обладающий активностью щелочной фосфатазы, являются эффективными для лечения неспособности выполнения повседневных действий (ADL) и боли при их выполнении, ассоциированных с нарушением минерализации костной ткани, таким как HPP. В частности, субъект, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который является предрасположенным к развитию такового, может быть протестирован с помощью SPPB и для оценки эффективности лечения посредством введения sALP.

Например, если введение описываемого в данном документе sALP субъекту, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который предрасположен к развитию такового, приводит в результате к среднему увеличению балла по SPPB до приблизительно 6 или более чем приблизительно 6, при этом субъект ранее имел средний балл по SPPB, составляющий менее чем приблизительно 6, то sALP является эффективной при лечении нарушения минерализации костной ткани, такого как HPP. Альтернативно, если введение описываемого в данном документе sALP не приводит в результате к среднему увеличению балла по SPPB до приблизительно 6 или более чем приблизительно 6, то дозировку и частоту введения sALP можно изменить с целью определения эффективного количества sALP для субъекта, у которого имеется нарушение

минерализации костной ткани, такое как HPP, или который является предрасположенным к развитию такового. Например, дозировку sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним) можно увеличить, например, от приблизительно 0,5-3 мг/кг/неделя до приблизительно 3-6 мг/кг/неделя или от приблизительно 3-6 мг/кг/неделя до приблизительно 6-9 мг/кг/неделя. Если SBBP увеличивается выше предварительно определенного порога, то субъект может прекратить лечение и периодически наблюдаться на предмет изменений его балла по SBBP. Если балл по SBBP уменьшается ниже предварительно определенного порога, то терапию можно повторно начать.

## Временной Тест "встань и иди" (TUG)

Временной тест "встань и иди" (TUG) измеряет в секундах время, затрачиваемое индивидуумом на то, чтобы встать со стандартного кресла, пройти расстояние, составляющее 3 метра (примерно 10 футов), повернуться, вернуться к креслу и сесть. Для данного теста необходимо, чтобы пациенты носили свою обычную обувь и применяли свои привычные вспомогательные средства для ходьбы (без средств, трость, ходунки). Никакой физической помощи не оказывается. Пациенты начинают тест, прислонившись спиной к креслу, положив руки на подлокотники и взяв в руки их вспомогательное средство для ходьбы. Их инструктируют, что при слове "идите" они должны встать и пройти в удобном и безопасном темпе до линии на полу на расстоянии 3 м, повернуться, вернуться к креслу и снова сесть. Перед тем, как замерить время, пациент один раз проходит тест с целью ознакомления с тестом. Для измерения времени теста можно применять либо секундомер, либо наручные часы с секундной стрелкой. Нормальные здоровые пожилые лица обычно выполняют задание за 10 секунд или меньше. Очень слабым или ослабленным пожилым лицам с плохой подвижностью может потребоваться 2 минуты или больше. Балл, составляющий ≥14 секунд, может указывать на высокий риск падений. Тест TUG может проводиться не располагающим информацией оценивающим специалистом.

Балл по TUG у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который является предрасположенным к развитию такового, можно применять для оценки эффективности лечения с применением щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), при этом улучшения балла в определенном тесте свидетельствуют о том, что щелочная фосфатаза или полипептид, обладающий активностью щелочной фосфатазы, являются эффективными для лечения нарушения минерализации костной ткани, такого как HPP. В частности, субъект, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который является предрасположенным к развитию такового, может быть протестирован с помощью теста TUG для оценки эффективности лечения посредством введения sALP.

Например, если введение описываемого в данном документе sALP субъекту, у

которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, приводит в результате к среднему снижению балла по TUG до приблизительно 14 или менее чем приблизительно 14, при этом субъект ранее имел средний балл по TUG, составляющий более чем приблизительно 14, то sALP является эффективной при лечении, например, неспособности выполнения повседневных действий (ADL) и наличия боли при их выполнении, ассоциированных с нарушением минерализации костной ткани, таким как НРР. Альтернативно, если введение описываемого в данном документе sALP не приводит в результате к среднему снижению балла по TUG до приблизительно 14 или менее чем приблизительно 14, то дозировку и частоту введения sALP можно изменить с целью определения эффективного количества sALP для субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который является предрасположенным к развитию такового. Например, дозировку sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним) можно увеличить, например, от приблизительно 0,5-3 мг/кг/неделя до приблизительно 3-6 мг/кг/неделя или от приблизительно 3-6 мг/кг/неделя до приблизительно 6-9 мг/кг/неделя. Если результат теста TUG субъекта уменьшается ниже предварительно определенного порога, то субъект может прекратить лечение и периодически наблюдаться на предмет изменений балла в тесте TUG. Если балл по TUG увеличивается выше предварительно определенного порога, то лечение может быть повторно начато.

Тест двигательных навыков Бруининкса-Осерецкого 2-го издания (ВОТ-2)

Иллюстративный тест двигательных навыков Бруининкса-Осерецкого 2-го издания (ВОТ-2) описан в работе Bruininks, R. H. (2005). *Bruininks-Oseretsky Test of Motor Proficiency, (ВОТ-2)*, Minneapolis, MN: Pearson Assessment, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В частности, ВОТ-2 можно применять для оценки физических патологий и ограничений подвижности у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани (например, НРР), или который предрасположен к развитию такового, для получения балла по ВОТ-2 для субъекта.

ВОТ-2 включает ряд тестов для оценки физических патологий у субъекта, которые можно проводить, например, с помощью набора, включающего данные тесты. ВОТ-2 позволяет получить комплексные баллы по ВОТ-2 в следующих областях: сила, скорость бега и ловкость, точность мелкой моторики, согласованность мелкой моторики, ловкость рук, двухсторонняя координация, равновесие и координация верхних конечностей. Например, для определения балла по силе по ВОТ-2 субъект, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, может выполнить приседания, V-образные скручивания лежа, прыжки в длину с места, приседания у стены и/или отжимания. Для определения балла по скорости бега и ловкости по ВОТ-2 субъект, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, может пройти по гимнастическому бревну и/или выполнить челночный бег, боковой прыжок на двух ногах

и/или боковой прыжок на одной ноге. Для определения балла по точности мелкой моторики по ВОТ-2 субъект, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, может вырезать круг и/или соединить точки. Для определения балла по согласованности мелкой моторики по ВОТ-2 субъект, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, может скопировать звезду и/или скопировать квадрат. Для определения балла по ловкости рук субъект, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, может передавать пенни, сортировать карты и/или выстраивать кубики в линию. Для определения балла по двухсторонней координации по ВОТ-2 субъект, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, может постучать своей ступней или пальцем и/или выполнить прыжки с места на место. Для определения балла по равновесию по ВОТ-2 субъект, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, может пройтись вперед по линии и/или постоять на одной ноге на гимнастическом бревне. Для определения балла по координации верхних конечностей по ВОТ-2 субъект, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, может бросить мяч в цель и/или поймать брошенный мяч.

Субъект, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, может пройти тесты в одной или нескольких из описанных областей (сила, скорость бега и ловкость, точность мелкой моторики, согласованность мелкой моторики, ловкость рук, двухсторонняя координация, равновесие и координация верхних конечностей) для получения балла по ВОТ-2, которая указывает на физические патологии у субъекта. В каждой области ВОТ-2 (сила, скорость бега и ловкость, точность мелкой моторики, согласованность мелкой моторики, ловкость рук, двухсторонняя координация, равновесие и координация верхних конечностей) такой субъект может пройти один или несколько тестов для определения балла по ВОТ-2 у субъекта, например, для определения балла по силе по ВОТ-2 субъект может выполнить одно или несколько из приседаний, V-образных скручиваний лежа, прыжков в длину с места, приседаний у стены и отжиманий. Так, для определения балла по ВОТ-2 (например, балла по силе по ВОТ-2) у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР (например, НРР-подобное заболевание), или который является предрасположенным к развитию такового, можно провести лишь один тест (например, один тест, выбранный из группы приседаний, V-образных сгибаний лежа, прыжка в длину с места, приседания у стены и отжиманий).

Каждый из баллов по ВОТ-2 (по силе, скорости бега и ловкости, точности мелкой моторики, согласованности мелкой моторики, ловкости рук, двухсторонней координации, равновесию и координации верхних конечностей) у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который является

предрасположенным к развитию такового, можно сравнить с баллом по ВОТ-2 у субъекта без нарушения минерализации костной ткани, такого как НРР, для, например, осуществления сравнения балла по ВОТ-2 на исходном уровне. Каждый из баллов по ВОТ-2 (например, по силе, скорости бега и ловкости, точности мелкой моторики, согласованности мелкой моторики, ловкости рук, двухсторонней координации, равновесию и координации верхних конечностей) у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который является предрасположенным к развитию такового, можно сравнить с баллом по ВОТ-2 у других субъектов, у которых имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или которые являются предрасположенными к развитию такового, для, например, получения относительного балла по ВОТ-2 для субъекта.

Баллы по ВОТ-2 (например, баллы по силе, скорости бега и ловкости, точности мелкой моторики, согласованности мелкой моторики, ловкости рук, двухсторонней координации, равновесию и координации верхних конечностей) находятся в диапазоне от приблизительно 0 до приблизительно 25 или меньше, при этом балл от приблизительно 10 до приблизительно 20 считают репрезентативным для здорового субъекта (например, субъекта без нарушения минерализации костной ткани, такого как НРР). Субъекта со средним баллом в ВОТ-2 (например, баллами по силе, скорости бега и ловкости, точности мелкой моторики, согласованности мелкой моторики, ловкости рук, двухсторонней координации, равновесию и координации верхних конечностей), составляющим менее чем приблизительно 10, можно подвергать лечению с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, например, sALP, например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним.

Например, субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который является предрасположенным к развитию такового, с баллом по силе в ВОТ-2, составляющим менее 10 (например, приблизительно 0, приблизительно 1, приблизительно 2. приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно приблизительно 6, приблизительно 7, приблизительно 8, приблизительно 9 или приблизительно 10) можно подвергать лечению с помощью sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним) в течение некоторого периода времени, вплоть до в течение всей жизни субъекта. Аналогично, субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который является предрасположенным к развитию такового, с баллом по скорости бега и ловкости в ВОТ-2, составляющим менее 10 (например, приблизительно 0, приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно приблизительно 6, приблизительно 7, приблизительно 8, приблизительно 9 или приблизительно 10), можно подвергать лечению с помощью sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по

меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним) в течение некоторого периода времени, вплоть до в течение всей жизни субъекта.

Способы могут приводит в результате к улучшению балла по ВОТ-2 (например, балла по силе, скорости бега и ловкости, точности мелкой моторики, согласованности мелкой моторики, ловкости рук, двухсторонней координации, равновесию и/или координации верхних конечностей) у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который является предрасположенным к развитию такового. Например, лечение с помощью щелочной фосфатазы или полипентида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипентида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), такое как лечение с помощью sALP в течение некоторого периода времени, может приводить в результате к среднему увеличению балла по силе в ВОТ-2, находящемуся в диапазоне от приблизительно 10 до приблизительно 20 (например приблизительно 10, приблизительно 11, приблизительно 12, приблизительно 13, приблизительно 14, приблизительно 15, приблизительно 16, приблизительно 17, приблизительно 18, приблизительно 19 или приблизительно 20). Кроме того, лечение с помощью sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним) может приводить в результате к среднему увеличению балла по скорости бега и ловкости в ВОТ-2, находящемуся в диапазоне от приблизительно 5 до приблизительно 20 (например, приблизительно 5, приблизительно 6, приблизительно 7, приблизительно 8. приблизительно 11, приблизительно приблизительно 9, приблизительно 10, 12, приблизительно 13, приблизительно 14, приблизительно 15, приблизительно приблизительно 17, приблизительно 18, приблизительно 19 или приблизительно 20).

Увеличение балла в ВОТ-2 (например, балла по силе, скорости бега и ловкости, точности мелкой моторики, согласованности мелкой моторики, ловкости рук, двухсторонней координации, равновесию и/или координации верхних конечностей) может сохраняться в течение всего периода введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере с 85% идентичностью последовательности с ним), например, в течение некоторого периода времени. Аналогично, уменьшение физических патологий мышц после введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью шелочной фосфатазы.

Баллы в ВОТ-2 (баллы по силе, скорости бега и ловкости, точности мелкой моторики, согласованности мелкой моторики, ловкости рук, двухсторонней координации, равновесию и координации верхних конечностей) у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который является

предрасположенным к развитию такового, можно применять отдельно или в комбинации с другими метрическими показателями для оценки эффективности лечения с применением щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), при этом улучшения балла в определенном тесте свидетельствуют о том, что щелочная фосфатаза или полипептид, обладающий активностью щелочной фосфатазы, являются эффективными для лечения мышечных патологий, ассоциированных с нарушением минерализации костной ткани, таким как НРР. Например, если введение описываемого в данном документе sALP субъекту, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, приводит в результате к среднему увеличению балла по скорости бега и ловкости по ВОТ-2 до приблизительно 5 или более чем приблизительно 5, при этом субъект ранее имел средний балл по скорости бега и ловкости по ВОТ-2, составляющий менее чем приблизительно 5, то sALP считают эффективным при, например, лечении физических патологий, ассоциированных с нарушением минерализации костной ткани, таким как НРР.

Кроме того, в каждой области ВОТ-2 (силе, скорости бега и ловкости, точности мелкой моторики, согласованности мелкой моторики, ловкости рук, двухсторонней координации, равновесии и координации верхних конечностей) субъект, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, может пройти один или несколько тестов для определения балла по ВОТ-2 у субъекта.

Альтернативно, если введение щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого sALP, который описан в данном документе, не приводит в результате к среднему увеличению балла по скорости бега и ловкости в ВОТ-2 до более чем приблизительно 5, дозировку и/или частоту введения можно изменить с целью эффективного количества щелочной фосфатазы или полипептида, определения обладающего активностью щелочной фосфатазы, для субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который является предрасположенным к развитию такового. Например, дозировку sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательность под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним) можно увеличить, например, от приблизительно 0,5-3 мг/кг/неделя до приблизительно 3-6 мг/кг/неделя или от приблизительно 3-6 мг/кг/неделя до приблизительно 6-9 мг/кг/неделя. Если балл в ВОТ-2 субъекта увеличивается выше предварительно определенного порога, то субъект может прекратить лечение и периодически наблюдаться на предмет изменений его балла по ВОТ-2. Если балл в ВОТ-2 уменьшается ниже предварительно определенного порога, то терапию можно повторно начать.

#### Краткая форма опросника из 36 пунктов (SF-36)

Связанное со здоровьем качество жизни относится к функционированию и благополучию в физической, психической и социальной сферах жизни. SF-36 состоит из 8 многопунктовых шкал (35 пунктов), оценивающих физическую функцию (10 пунктов), ролевые ограничения вследствие физических проблем со здоровьем (4 пункта), телесную боль (2 пункта), общее состояние здоровья (5 пунктов), жизненную активность (4 пункта), социальное функционирование (2 пункта), ролевые ограничения в связи с эмоциональными проблемами (3 пункта) и эмоциональное благополучие (5 пунктов). Данные 8 шкал могут быть объединены в 2 обобщенных показателя: балл PCS и балл обобщения психического компонента (MCS). 36-й пункт, в котором спрашивается об изменении здоровья, не включен в шкалу или обобщенные баллы.

SF-36 представляет собой опросник для самостоятельного заполнения. Пациенты заполняют 1 ответ из ряда вариантов для каждого из 36 вопросов. Затем комбинацию ответов на пункты обобщают для расчета балла по каждой из 8 перечисленных шкал. Баллы по каждому параметру варьируют в диапазоне от 0 до 100, причем более высокие баллы указывают на лучшее состояние здоровья. Боль в теле также оценивают в баллах таким же образом, причем более высокие баллы указывают на меньшую боль. 2 обобщенных показателя (PCS и MCS) оценивают в баллах иначе, чем по 8 параметрам в баллах. Данные шкалы оценивают в баллах с применением основанных на нормах способов. Балл, составляющий 50, отражает средний балл по отношению к этим популяциям. Баллы ниже 50 отражают состояние здоровье выше среднего.

Балл по SF-36 у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который является предрасположенным к развитию такового, можно применять для оценки эффективности лечения с применением щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), при этом улучшения балла в определенном тесте свидетельствуют о том, что щелочная фосфатаза или полипептид, обладающий активностью щелочной фосфатазы, являются эффективными для лечения неспособности выполнения повседневных действий (ADL) и боли при их выполнении, ассоциированных с нарушением минерализации костной ткани, таким как HPP. В частности, субъекту, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который предрасположен к развитию такового, можно задать один или несколько вопросов в одной или нескольких из восьми шкал для получения среднего балла по SF-36 и для оценки эффективности лечения путем введения sALP.

Например, если введение описываемого в данном документе sALP субъекту, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который предрасположен к развитию такового, приводит в результате к среднему увеличению балла по SF-36 до приблизительно 50 или более чем приблизительно 50, при этом субъект ранее имел средний балл по SF-36, составляющий менее чем приблизительно 50, то sALP является

эффективной при лечении, например, неспособности выполнения повседневных действий (ADL) и наличия боли при их выполнении, ассоциированных с нарушением минерализации костной ткани, таким как НРР. Альтернативно, если введение описываемого в данном документе sALP не приводит в результате к среднему увеличению балла по SF-36 до приблизительно 50 или более чем приблизительно 50, то дозировку и частоту введения sALP можно изменить с целью определения эффективного количества sALP для субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который является предрасположенным к развитию такового. Например, дозировку sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним) можно увеличить, например, от приблизительно 0,5-3 мг/кг/неделя до приблизительно 3-6 мг/кг/неделя или от приблизительно 3-6 мг/кг/неделя до приблизительно 6-9 мг/кг/неделя. Если балл по SF-36 субъекта увеличивается выше предварительно определенного порога, то субъект может прекратить лечение и периодически наблюдаться на предмет изменений его балла по SF-36. Если балл по SF-36 уменьшается ниже предварительно определенного порога, то терапию можно повторно начать.

Шкала оценки функций нижних конечностей (LEFS)

LEFS относится к способу измерения функциональной нетрудоспособности нижних конечностей у пациентов, в частности у пациентов с НРР (например, у пациентов возрастом приблизительно 13 лет или старше). LEFS представляет собой средство для самооценки, описанное в работе Binkley et al. (Phys Ther. 79:371-83, 1999), которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Суммарные баллы по LEFS варьируют от 0 до 80, причем более высокие баллы указывают на лучшее функционирование нижних конечностей. Изменение балла по LEFS приблизительно на 9 единиц считается клинически значимым изменением. Лицензированный физиотерапевт может применять LEFS для пациентов с HPP (например, пациентов с HPP возрастом приблизительно 13 лет и старше) в формате интервью. Более высокие баллы по LEFS указывают на улучшение функционирования нижних конечностей, в том числе переходные движения (например, выход из ванны или перекатывание в постели), передвижение (например, ходьба или бег по неровной поверхности), подъем по лестнице и приседание. LEFS можно применять для оценки функциональной патологии одной или обеих нижних конечностей у пациента с НРР, в том числе она обеспечивает возможность наблюдения за пациентом с течением времени и оценки эффективности лечения асфотазой альфа.

Увеличение балла по LEFS у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, может сохраняться в течение всего периода введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы (например, sALP, например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), например, в течение периода лечения, составляющего по меньшей мере две недели (например, по меньшей мере три недели, по

меньшей мере четыре недели, по меньшей мере пять недель, по меньшей мере шесть недель, по меньшей мере семь недель, по меньшей мере восемь недель, по меньшей мере девять недель, по меньшей мере десять недель, по меньшей мере три месяца, по меньшей мере четыре месяца, по меньшей мере пять месяцев, по меньшей мере шесть месяцев, по меньшей мере семь месяцев, по меньшей мере восемь месяцев, по меньшей мере девять месяцев, по меньшей мере один год, по меньшей мере два года, по меньшей мере три года, по меньшей мере четыре года, по меньшей мере пять лет, по меньшей мере шесть лет, по меньшей мере семь лет, по меньшей мере девять лет или по меньшей мере десять лет или в течение всей жизни субъекта; в частности по меньшей мере шесть недель). Например, балл по LEFS увеличивается по меньшей мере на 9 пунктов и остается на уровне ±10% от балла по LEFS в ходе лечения с помощьющелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы.

Альтернативно, если введение щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы (например, sALP, например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), не приводит в результате к среднему увеличению балла по LEFS на меньшей мере на 9 пунктов, то дозировку и/или частоту введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, можно изменить с целью определения эффективного количества щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, для субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP. Например, дозировку щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, можно увеличить с, например, приблизительно 0,1-3 мг/кг/неделя или приблизительно 3-6 мг/кг/неделя до приблизительно 3-6 мг/кг/неделя или приблизительно 6-9 мг/кг/неделя. Если балл по LEFS субъекта увеличивается выше предварительно определенного порога, то субъект может прекратить лечение и периодически наблюдаться на предмет изменений его балла по LEFS. Если балл по LEFS уменьшается ниже предварительно определенного порога, то терапию можно повторно начать.

### Опросный лист состояния здоровья ребенка (СНАQ)

Опросный лист состояния здоровья ребенка (CHAQ) можно применять для оценки статуса здоровья детей с нарушением минерализации костной ткани, таким как HPP, для получения балла по индексу CHAQ у ребенка, как описано в работах Bruce & Fries (*J. Rheumatol.* 30(1): 167-178, 2003) и Klepper (*Arthritis & Rheumatism*, 49: S5-S14, 2003), которые включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.. CHAQ включает восемь категорий вопросов в отношении одевания/ухода за собой, вставания на ноги, приема пищи, ходьбы, гигиены, способности дотягиваться, хвата и видов деятельности, в которых родитель или опекун регистрирует степень затруднений, испытываемых ребенком с нарушением минерализации костной ткани, таким как HPP, при осуществлении соответствующих видов деятельности. Диапазон баллов в каждой

категории составляет от 0 до 3, где балл 0 указывает на отсутствие каких-либо затруднений; балл 1 указывает на наличие некоторых затруднений; балл 2 указывает на наличие больших затруднений; и балл 3 указывают на то, что ребенок не может выполнить данное действие.

Детей, у которых имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или которые являются предрасположенными к развитию такового, со средним баллом по индексу СНАО (например, указывающим на неспособность выполнения повседневных действий (ADL) и/или на наличие боли при их выполнении), составляющим более чем приблизительно 0,8 (например, приблизительно 0,8, приблизительно 1, приблизительно 1,2, приблизительно 1,4, приблизительно 1,6, приблизительно 1,8, приблизительно 2,0, приблизительно 2,2, приблизительно 2,4, приблизительно 2,6, приблизительно 2,8 или приблизительно 3,0), можно подвергать лечению путем введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним). Например, детей со средним баллом по индексу СНАО, составляющим более чем приблизительно 0,8, можно подвергать лечению путем введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним) в течение некоторого периода времени, вплоть до в течение всей жизни субъекта. Более того, ребенку, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, которое раскрыто в данном документе, или который предрасположен к развитию такового, можно задать один или несколько вопросов в одной или нескольких из восьми категорий (одевание/уход за собой, вставание на ноги, прием пищи, ходьбы, гигиена, способность дотягиваться, хват и виды деятельности) для получения среднего балла по индексу СНАО, и если средний балл по индексу CHAQ составляет более чем приблизительно 0,8, ребенка можно лечить путем введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP.

Балл по индексу CHAQ у ребенка, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, которое раскрыто в данном документе, или который предрасположен к развитию такового, можно сравнивать с баллом по индексу CHAQ у детей без такого нарушения минерализации костной ткани, такого как HPP, для, например, определения стандартного отклонения балла по индексу CHAQ. Кроме того, балл по индексу CHAQ у ребенка, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, которое раскрыто в данном документе, или который предрасположен к развитию такового, можно сравнить с баллом по индексу CHAQ у других детей, у которых имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, которое раскрыто в данном документе, или которые предрасположены к развитию такового, для, например, определения стандартного отклонения балла по индексу CHAQ.

Способы могут приводит в результате к улучшению балла по индексу СНАО

(например, указывающего на неспособность выполнения ADL и/или на наличие боли при их выполнении) у ребенка, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, которое раскрыто в данном документе, или который предрасположен к развитию такового. Например, лечение с помощью sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), такое как лечение с помощью sALP в течение некоторого периода времени, вплоть до в течение всей жизни ребенка, может приводить в результате к среднему уменьшению балла по индексу CHAQ, находящемуся в диапазоне от приблизительно 0 до приблизительно 0,5 или меньше (например, приблизительно 0, приблизительно 0,1, приблизительно 0,2, приблизительно 0,4 или приблизительно 0,5) у детей с HPP-подобным заболеванием.

Уменьшение балла по индексу СНАО у ребенка, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, может сохраняться в течение всего периода введения щелочной фосфатазы или полипентида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), например, в течение некоторого периода времени, вплоть до в течение всей жизни ребенка. Аналогично, увеличение ADL и/или уменьшение боли у ребенка может сохраняться в течение всего введения **sALP** (например, характеризующегося периода полипептида, последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним) в течение некоторого периода времени, вплоть до в течение всей жизни ребенка.

Балл по индексу СНАО у ребенка, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, можно применять для оценки эффективности лечения с применением щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), при этом улучшения балла в определенном тесте свидетельствуют о том, что щелочная фосфатаза или полипептид, обладающий активностью щелочной фосфатазы, являются эффективными для лечения неспособности выполнения повседневных действий (ADL) и боли при их выполнении, ассоциированных с нарушением минерализации костной ткани, таким как НРР. В частности, ребенку, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, можно задать один или несколько вопросов в одной или нескольких из восьми категорий (одевание/уход за собой, вставание на ноги, прием пищи, ходьбы, гигиена, способность дотягиваться, хват и виды деятельности) для получения среднего балла по индексу CHAQ и для оценки эффективности лечения путем введения sALP. Например, если введение описываемого в данном документе sALP ребенку, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, приводит в результате к среднему уменьшению балла по индексу СНАО до приблизительно 0,5 или меньше, при этом ребенок ранее имел средний балл по индексу СНАО, составляющий более чем приблизительно 0,8, то sALP является эффективной при лечении, например, неспособности выполнения действий в повседневной жизни (ADL) и боли при их выполнении, ассоциированных с нарушением минерализации костной ткани, таким как HPP. Альтернативно, если введение sALP не приводит в результате к среднему уменьшению балла по индексу СНАО, составляющему приблизительно 0,5 или меньше, то дозировку и/или частоту введения sALP можно изменить с целью определения эффективного количества sALP для ребенка, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового. sALP Например, дозировку (например, полипептида, характеризующегося последовательность под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним) можно увеличить, например, от приблизительно 0,5-3 мг/кг/неделя до приблизительно 3-6 мг/кг/неделя или от приблизительно 3-6 мг/кг/неделя до приблизительно 6-9 мг/кг/неделя. Если CHAQ увеличивается выше предварительно определенного порога, то субъект может прекратить лечение и периодически наблюдаться на предмет изменений его балла по СНАQ. Если балл по СНАQ уменьшается ниже предварительно определенного порога, то терапию можно повторно начать.

### Инструмент для сбора данных о результатах у детей (PODCI)

Определенных субъектов, у которых имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или которые предрасположены к развитию такового, можно определить для лечения с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего щелочной фосфатазы, такого как sALP активностью (например, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним) с помощью Инструмента для сбора данных о результатах у детей (PODCI). PODCI можно применять для оценки статуса здоровья у детей с получением балла по PODCI для субъекта, как описано в Plint et al. (J. Pediatr. Orthop. 23(6): 788-790, 2003). PODCI включает восемь категорий вопросов, ответы на которые может давать субъект, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, или родитель/опекун субъекта. Категории, которые можно применять для определения РООСІ у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, включают следующие: 1) шкалу для оценки функции верхних конечностей и физических функций для измерения затруднений, возникающих при осуществлении ежедневных действий по уходу за собой и обучению; 2) шкалу для оценки способности к перемещению и основной подвижности для измерения затруднений, испытываемых при осуществлении стандартных двигательных и моторных действий в ежедневных действиях; 3) шкалу для оценки возможности осуществления

спортивных/физических функций для измерения затруднений или ограничений, возникающих при участии в более активных видах деятельности или занятиях спортом; 4) шкалу для оценки боли/комфорта для измерения уровня боли, испытываемой в течение последней недели; 5) шкалу для оценки ожиданий от лечения для измерения долгосрочных ожиданий от лечения; 6) шкалу для оценки счастья для измерения общей удовлетворенности своей внешностью и ощущением сходства с друзьями и сверстниками; 7) шкалу для оценки удовлетворенности симптомами для измерения уровня принятия субъектом текущих ограничений, если это состояние на всю жизнь и 8) глобальную шкалу для оценки возможности осуществления функций, представляющую собой общую комбинированную шкалу, рассчитанную на основе первых четырех перечисленных выше шкал. В каждой из категорий для субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который является предрасположенным к развитию такового, определяют стандартизированный балл и затем преобразуют его в балл по шкале от 0 до 100, в которой 0 обозначает значительную степень нетрудоспособности, и 100 обозначает наименьшую степень нетрудоспособности.

Субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который является предрасположенным к развитию такового, со средним баллом по PODCI (например, указывающим на неспособность выполнения ADL и/или на наличие боли при их выполнении), составляющим менее чем приблизительно 40 (например, приблизительно 5, приблизительно 10, приблизительно 15, приблизительно 20, приблизительно 25, приблизительно 30, приблизительно 35 или приблизительно 39), можно подвергать лечению путем введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним). Например, субъекта со средним баллом по PODCI, составляющим менее чем 40, можно подвергать лечению путем введения sALP в течение некоторого периода времени, вплоть до в течение всей жизни субъекта. Более того, субъекту, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, можно задать один или несколько вопросов по одной или нескольким из восьми описанных выше шкал (например, шкала для оценки способности к переносу и основной подвижности, возможности осуществления спортивных/физических функций и боли/дискомфорта) для получения среднего балла по PODCI, и если средний балл по PODCI превышает значение менее 40, субъекта можно подвергать лечению путем введения sALP.

Описываемые в данном документе способы могут приводит в результате к увеличению балла по PODCI (например, указывающего на неспособность выполнения ADL и/или на наличие боли при их выполнении) у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который является предрасположенным к развитию такового. Например, лечение с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например,

полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), такое как лечение с помощью sALP в течение некоторого периода времени, вплоть до в течение всей жизни субъекта, может приводить в результате к среднему увеличению балла по PODCI, находящемуся в диапазоне от приблизительно 40 до приблизительно 50 (например приблизительно 40, приблизительно 41, приблизительно 42, приблизительно 43, приблизительно 44, приблизительно 45, приблизительно 46, приблизительно 47, приблизительно 48, приблизительно 49 или приблизительно 50).

Увеличение балла по PODCI может сохраняться в течение всего периода введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под из SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), например, в течение некоторого периода времени, вплоть до в течение всей жизни субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который предрасположен к развитию такового. Аналогично, увеличение ADL и/или уменьшение боли может сохраняться в течение всего периода введения sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним) в течение некоторого периода времени, вплоть до в течение всей жизни субъекта.

Балл по PODCI у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который является предрасположенным к развитию такового, можно применять для оценки эффективности лечения с применением щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), при этом улучшения балла в определенном тесте свидетельствуют о том, что щелочная фосфатаза или полипептид, обладающий активностью щелочной фосфатазы, являются эффективными для лечения неспособности выполнения повседневных действий (ADL) и боли при их выполнении, ассоциированных с нарушением минерализации костной ткани, таким как НРР. В частности, субъекту, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, можно задать один или несколько вопросов по одной или нескольким из восьми шкал (шкале для оценки функции верхних конечностей и физических функций, шкале для оценки способности к перемещению и основной подвижности, шкале для оценки возможности осуществления спортивных/физических функций, шкале для оценки боли/комфорта, шкале для оценки ожиданий от лечения, шкале для оценки счастья, шкале для оценки удовлетворенности симптомами и глобальной шкале для оценки возможности осуществления функций) для получения среднего балла по PODCI и для оценки эффективности лечения путем введения sALP.

Например, если введение описываемого в данном документе sALP субъекту, у

которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, приводит в результате к среднему увеличению балла по PODCI до приблизительно 40 или более чем приблизительно 40, при этом субъект ранее имел средний балл по PODCI, составляющий менее чем приблизительно 40, то sALP является эффективной при лечении, например, неспособности выполнения повседневных действий (ADL) и наличия боли при их выполнении, ассоциированных с нарушением минерализации костной ткани, таким как НРР. Альтернативно, если введение описываемого в данном документе sALP не приводит в результате к среднему увеличению балла по PODCI до приблизительно 40 или более чем приблизительно 40, то дозировку и частоту введения sALP можно изменить с целью определения эффективного количества sALP для субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который является предрасположенным к развитию такового. Например, дозировку sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним) можно увеличить, например, от приблизительно 0,5-3 мг/кг/неделя до приблизительно 3-6 мг/кг/неделя или от приблизительно 3-6 мг/кг/неделя до приблизительно 6-9 мг/кг/неделя. Если балл по PODCI субъекта увеличивается выше предварительно определенного порога, то субъект может прекратить лечение и периодически наблюдаться на предмет изменений его балла по PODCI. Если балл по PODCI уменьшается ниже предварительно определенного порога, то терапию можно повторно начать.

Шкалы Бейли для оценки развития младенцев и детей дошкольного возраста 3-го издания (BSID-III)

Еще одну конечную точку, шкалы Бейли для оценки развития младенцев и детей дошкольного возраста 3-го издания (BSID-III), можно применять для оценки статуса здоровья субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который является предрасположенным к развитию такового, от момента рождения для получения балла по BSID-III для субъекта, как описано в работе Bayley. (2006). Bayley scales of infant and toddler development: administration manual. San Antonio, ТХ: Harcourt Assessment. BSID-III предусматривает серию развивающих игровых заданий, которые можно применять у субъекта для определения необработанного балла по BSID-III. Например, категории для определения балла по BSID-III у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который является предрасположенным К развитию такового (например, младенцев приблизительно три года или меньше с НРР), могут включать хватание, перцептивномоторную координацию, моторное планирование и скорость, визуальное слежение, способность дотягиваться до объекта, хватание объекта, манипуляцию с объектом, функциональные навыки пользования руками, реакции на тактильную информацию, движение конечностей и туловища, удерживание неподвижного положения, динамическое движение, равновесие и моторное планирование. Затем результаты измерений по BSID-III

преобразуют в нормированные баллы по BSID-III, которые можно применять для определения работоспособности субъекта по сравнению со здоровыми субъектами с поправкой на возраст. Нормированный балл по BSID-III у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который является предрасположенным к развитию такового (например, субъекта с HPP), может варьировать в диапазоне от 0 до 14, при этом баллы от приблизительно 7 до приблизительно 13 считают нормальным диапазоном для здорового субъекта.

У субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, можно провести тесты в одной или нескольких описанных категориях (хватание, перцептивно-моторная координация, моторное планирование и скорость, визуальное слежение, способность дотягиваться до объекта, хватание объекта, манипуляция с объектом, функциональные навыки пользования руками, реакции на тактильную информацию, движение конечностей и туловища, удерживание неподвижного положения, динамическое движение, равновесие и моторное планирование) в возрасте младенца (например, в возрасте приблизительно 3 года или менее 3 лет) для получения балла по BSID-III, указывающего на задержку моторного развития. Субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который является предрасположенным к развитию такового, со средним баллом по BSID-III в одной или нескольких из описанных категорий (хватание, перцептивно-моторная координация, моторное планирование и скорость, визуальное слежение, способность дотягиваться до объекта, хватание объекта, манипуляция с объектом, функциональные навыки пользования руками, реакции на тактильную информацию, движение конечностей и туловища, удерживание неподвижного положения, динамическое движение, равновесие и моторное планирование), составляющим менее чем приблизительно 2, в возрасте младенца можно подвергать лечению путем введения sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним). В частности, субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который является предрасположенным к развитию такового, со средним баллом по BSID-III менее чем приблизительно 2 в возрасте младенца можно подвергать лечению путем введения sALP в течение некоторого периода времени, вплоть до в течение всей жизни субъекта.

Применение способов может приводить в результате к улучшению среднего балла по BSID-III (например, указывающего на задержку моторного развития) у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который является предрасположенным к развитию такового. Например, лечение с помощью sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), такое как лечение с помощью sALP в течение некоторого периода времени, вплоть до в течение всей жизни субъекта, может приводить в результате к среднему увеличению балла по BSID-III до более чем приблизительно 5 (например приблизительно 5, приблизительно 6,

приблизительно 7, приблизительно 8, приблизительно 9, приблизительно 10, приблизительно 11, приблизительно 12 или приблизительно 13).

Увеличение балла по BSID-III может сохраняться в течение всего периода введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под из SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), в течение некоторого периода времени, вплоть до в течение всей жизни субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который предрасположен к развитию такового. Аналогично, увеличение уровня моторного развития может сохраняться в течение всего периода введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), например, в течение некоторого периода времени, вплоть до в течение всей жизни субъекта.

Балл по BSID-III у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который является предрасположенным к развитию такового, можно применять для оценки эффективности лечения с применением щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), при этом улучшения балла в определенном тесте свидетельствуют о том, что щелочная фосфатаза или полипептид, обладающий активностью щелочной фосфатазы, являются эффективными для лечения, например, задержки моторного развития, ассоциированной с нарушением минерализации костной ткани, таким как НРР. В частности, у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, можно провести тесты в одной или нескольких описанных категориях (хватание, перцептивно-моторная координация, моторное планирование и скорость, визуальное слежение, способность дотягиваться до объекта, хватание объекта, манипуляция с объектом, функциональные навыки пользования руками, реакции на тактильную информацию, движение конечностей и туловища, удерживание неподвижного положения, динамическое движение, равновесие и моторное планирование) в возрасте младенца (например, возрастом приблизительно три года или менее с НРР) для получения среднего балла по BSID-III и для оценки эффективности лечения путем введения sALP.

Например, если введение sALP ребенку, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который предрасположен к развитию такового, приводит в результате к среднему увеличению нормированного балла по BSID-III до более чем приблизительно 5, при этом ребенок ранее имел средний нормированный балл по BSID-III, составляющий менее чем приблизительно 2, в возрасте младенца (например, в возрасте приблизительно 3 года или меньше 3 лет), то sALP является эффективной при лечении, например, задержки моторного развития, ассоциированной с

НРР-подобным заболеванием. Альтернативно, если введение sALP не приводит в результате к среднему увеличению нормированного балла по BSID-III до более чем приблизительно 5, дозировку и/или частоту введения sALP можно изменить с целью определения эффективного количества sALP для ребенка, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который предрасположен к развитию такового. Например, дозировку sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним) можно увеличить, например, от приблизительно 0,5-3 мг/кг/неделя до приблизительно 3-6 мг/кг/неделя или от приблизительно 3-6 мг/кг/неделя до приблизительно 6-9 мг/кг/неделя. Если балл по BSID-III субъекта увеличивается выше предварительно определенного порога, то субъект может прекратить лечение и периодически наблюдаться на предмет изменений его балла по BSID-III. Если балл по BSID-III снижается ниже предварительно определенного порога, то терапию можно повторно начать.

Шкалы оценки моторного развития Peabody 2-го издания (PDMS-2)

Еще одну конечную точку, шкалы оценки моторного развития Peabody 2-го издания (PDMS-2), можно применять для оценки статуса здоровья субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который является предрасположенным к развитию такового, от момента рождения для получения балла по PDMS-2 для субъекта, как описано в работе van Hartingsveldt et al. (*Occup. Ther. Int.* 12(1): 1-13, 2005). PDMS-2 включает шесть категорий подтестов для измерения двигательных навыков у субъекта, такого как субъект с HPP.

В частности, для PDMS-2 результаты измерения можно определять по следующим подтестам: 1) локомоторный подтест для измерения способности субъекта передвигаться из одного места в другое (измерения включают ползание, ходьбу, бег, подпрыгивание и прыжки вперед); 2) подтест для оценки рефлексов для измерения способности субъекта автоматически реагировать на внешние события; 3) подтест стационарного состояния для измерения способности субъекта сохранять контроль за телом в центре тяжести и удерживать равновесие; 4) подтест манипуляций с объектом для измерения способности субъекта манипулировать объектом, как, например, ловить, бросать и пинать мяч; 5) хватательный подтест для измерения способности субъекта использовать свои руки, как, например, способности держать объект одной рукой и производить действия, предусматривающие контролируемое использование пальцев обеих рук; и 6) подтест на визуально-моторную координацию для измерения способности субъекта использовать свои навыки визуального восприятия для выполнения сложных заданий, требующих координации глаз и рук, как, например, способности дотягиваться до объекта и хватать объект, строить из кубиков и копировать структуры. Можно определить результаты измерения по PDMS-2 для одной или нескольких из данных категорий у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который является предрасположенным к развитию такового, а затем преобразовать в балл по PDMS-

2, такой как стандартный балл по локомоторным способностям по PDMS-2, находящийся в диапазоне от 0 до 13, при этом диапазон у здоровых субъектов (например, субъектов без нарушения минерализации костной ткани, такого как HPP) составляет от приблизительно 7 до приблизительно 13.

Субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который является предрасположенным к развитию такового, со средним баллом по PDMS (например, указывающим на задержку моторного развития) можно подвергать лечению путем введения sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним).

Описываемые в данном документе способы могут приводит в результате к улучшению балла по PDMS-2 (например, указывающего на задержку моторного развития) у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который является предрасположенным к развитию такового. Например, лечение с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), может приводить в результате к среднему увеличению балла по PDMS-2, находящемуся в диапазоне от приблизительно 7 до приблизительно 13 (например приблизительно 7, приблизительно 8, приблизительно 9, приблизительно 10, приблизительно 11, приблизительно 12 или приблизительно 13).

Увеличение балла по PDMS-2 может сохраняться в течение всего периода введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под из SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), в течение продолжительного периода времени, например, в течение некоторого периода времени, вплоть до в течение всей жизни субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который предрасположен к развитию такового. Аналогично, увеличение уровня моторного развития может сохраняться в течение всего периода введения sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), в течение некоторого периода времени, вплоть до в течение всей жизни субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который предрасположен к развитию такового.

Балл по PDMS-2 у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который является предрасположенным к развитию такового, можно применять для оценки эффективности лечения с применением щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, такого как sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или

его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), при этом улучшения балла в определенном тесте свидетельствуют о том, что щелочная фосфатаза или полипептид, обладающий активностью щелочной фосфатазы, являются эффективными для лечения, например, задержки моторного развития, ассоциированной с нарушением минерализации костной ткани, таким как HPP. Например, ребенок, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который предрасположен к развитию такового, мог выполнять тесты в одной или нескольких описанных категориях (локомоторная, рефлексов, стационарного состояния, манипуляции с объектами, хватательной и визуально-моторной) в возрасте приблизительно 5 лет или менее 5 лет для получения среднего балла по PDMS-2 и для оценки эффективности лечения путем введения sALP.

Например, если введение sALP ребенку, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, или который предрасположен к развитию такового, приводит в результате к среднему увеличению стандартного балла по PDMS-2 до приблизительно 7, при этом ребенок ранее имел средний стандартный балл по PDMS-2, составляющий приблизительно 5, то sALP является эффективной при лечении, например, задержки моторного развития, ассоциированной с НРР-подобным заболеванием. Альтернативно, если введение sALP не приводит в результате к среднему увеличению стандартного балла по PDMS-2 до приблизительно 7, дозировку и/или частоту введения sALP можно изменить с целью определения эффективного количества sALP для ребенка. Например, дозировку sALP (например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним) можно увеличить, например, от приблизительно 0,5-3 мг/кг/неделя до приблизительно 3-6 мг/кг/неделя или от приблизительно 3-6 мг/кг/неделя до приблизительно 6-9 мг/кг/неделя. Если балл по PDMS-2 субъекта увеличивается выше предварительно определенного порога, то субъект может прекратить лечение и периодически наблюдаться на предмет изменений его балла по PDMS-2. Если балл по PDMS-2 уменьшается ниже предварительно определенного порога, то терапию можно повторно начать.

Тест шестиминутной ходьбы (6MWT)

Субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, можно определить для лечения с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы (например, sALP, например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним) с применением 6МWT. В частности, 6МWT можно применять для оценки способности к ходьбе у взрослого, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, для получения значения 6МWT для взрослого. 6МWT можно проводить в помещении или на открытом воздухе с использованием ровного, прямого, замкнутого коридора (например, приблизительно 30 метров в длину) с твердой поверхностью. Для отслеживания времени

можно использовать секундомер или другой таймер, а для определения расстояния (например, в метрах), которое проходит субъект, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, можно использовать механический счетчик или другое устройство. Например, длину коридора можно разметить через каждые три метра для определения количества метров, пройденных субъектом с нарушением минерализации костной ткани, таким как HPP, при этом точка разворота должна находиться на расстоянии 30 метров и линия старта должна быть также отмечена. Расстояние, пройденное за шесть минут субъектом, имеющим нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, затем можно сравнить с прогнозируемым количеством метров, пройденных, например, нормальным субъектом приблизительного того же возраста, того же пола и/или того же роста, и выразить в процентах с получением значения 6МWT субъекта. Значение 6MWT у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, можно сравнить со значением 6MWT на исходном уровне у субъекта. Дополнительно, значение 6МWT у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, можно сравнить со значением 6MWT у нормального субъекта.

Субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, со средним значением 6МWT, составляющим менее чем приблизительно 80% от прогнозируемого значения 6MWT (например, относительно нормального субъекта приблизительно того же возраста, того же пола и/или того же роста), можно подвергать лечению с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы (например, sALP, например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), например, путем введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, в течение периода лечения, составляющего по меньшей мере две недели (например, по меньшей мере три недели, по меньшей мере четыре недели, по меньшей мере пять недель, по меньшей мере шесть недель, по меньшей мере семь недель, по меньшей мере восемь недель, по меньшей мере девять недель, по меньшей мере десять недель, по меньшей мере три месяца, по меньшей мере четыре месяца, по меньшей мере пять месяцев, по меньшей мере шесть месяцев, по меньшей мере семь месяцев, по меньшей мере восемь месяцев, по меньшей мере девять месяцев, по меньшей мере один год, по меньшей мере два года, по меньшей мере три года, по меньшей мере четыре года, по меньшей мере пять лет, по меньшей мере шесть лет, по меньшей мере семь лет, по меньшей мере восемь лет, по меньшей мере девять лет или по меньшей мере десять лет либо в течение всей жизни субъекта; в частности, по меньшей мере шесть недель). Например, субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, со средним значением 6MWT, составляющим менее чем приблизительно 80% от прогнозируемого значения 6МWТ (например, приблизительно 50%, приблизительно 55%, приблизительно 60%, приблизительно 65%, приблизительно 70% или приблизительно 75% от прогнозируемого значения 6МWT),

можно подвергать лечению с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, в течение периода лечения, составляющего по меньшей мере две недели (например, по меньшей мере три недели, по меньшей мере четыре недели, по меньшей мере пять недель, по меньшей мере шесть недель, по меньшей мере семь недель, по меньшей мере восемь недель, по меньшей мере девять недель, по меньшей мере десять недель, по меньшей мере три месяца, по меньшей мере четыре месяца, по меньшей мере пять месяцев, по меньшей мере шесть месяцев, по меньшей мере семь месяцев, по меньшей мере восемь месяцев, по меньшей мере девять месяцев, по меньшей мере один год, по меньшей мере два года, по меньшей мере три года, по меньшей мере четыре года, по меньшей мере пять лет, по меньшей мере шесть лет, по меньшей мере девять лет или по меньшей мере семь лет, по меньшей мере девять лет или по меньшей мере десять лет либо в течение всей жизни субъекта; в частности, по меньшей мере шесть недель).

Способы могут приводит в результате к улучшению значения 6MWT у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР. Например, лечение с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы (например, sALP, например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1 или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), такое как лечение с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, в течение периода лечения, составляющего по меньшей мере две недели (например, по меньшей мере три недели, по меньшей мере четыре недели, по меньшей мере пять недель, по меньшей мере шесть недель, по меньшей мере семь недель, по меньшей мере восемь недель, по меньшей мере девять недель, по меньшей мере десять недель, по меньшей мере три месяца, по меньшей мере четыре месяца, по меньшей мере пять месяцев, по меньшей мере шесть месяцев, по меньшей мере семь месяцев, по меньшей мере восемь месяцев, по меньшей мере девять месяцев, по меньшей мере один год, по меньшей мере два года, по меньшей мере три года, по меньшей мере четыре года, по меньшей мере пять лет, по меньшей мере шесть лет, по меньшей мере семь лет, по меньшей мере восемь лет, по меньшей мере девять лет или по меньшей мере десять лет либо в течение всей жизни субъекта; в частности по меньшей мере шесть недель), может приводить в результате к среднему увеличению значения 6MWT до приблизительно 80% или больше от прогнозируемого значения 6MWT у субъекта (например, приблизительно 82%, приблизительно 84%, приблизительно 86%, приблизительно 88%, приблизительно 90%, приблизительно 92%, приблизительно 94%, приблизительно 96%, приблизительно 98% или больше от прогнозируемого значения 6MWT).

Увеличение значения 6МWT у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, может сохраняться в течение всего периода введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы (например, sALP, например, полипептида, характеризующегося

последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), например, в течение периода лечения, составляющего по меньшей мере две недели (например, по меньшей мере три недели, по меньшей мере четыре недели, по меньшей мере пять недель, по меньшей мере шесть недель, по меньшей мере семь недель, по меньшей мере восемь недель, по меньшей мере девять недель, по меньшей мере десять недель, по меньшей мере три месяца, по меньшей мере четыре месяца, по меньшей мере пять месяцев, по меньшей мере шесть месяцев, по меньшей мере семь месяцев, по меньшей мере восемь месяцев, по меньшей мере девять месяцев, по меньшей мере один год, по меньшей мере два года, по меньшей мере три года, по меньшей мере четыре года, по меньшей мере пять лет, по меньшей мере шесть лет, по меньшей мере семь лет, по меньшей мере восемь лет, по меньшей мере девять лет или по меньшей мере десять лет или в течение всей жизни субъекта; в частности по меньшей мере шесть недель). Например, значение 6MWT увеличивается до более чем приблизительно 80% от прогнозируемого значения 6MWT у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, и остается на уровне  $\pm 10\%$  от увеличенного значения 6MWT в ходе лечения с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы.

Аналогично, улучшение способности к ходьбе у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, может сохраняться в течение всего периода введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, например, в течение периода лечения, составляющего по меньшей мере две недели (например, по меньшей мере три недели, по меньшей мере четыре недели, по меньшей мере пять недель, по меньшей мере шесть недель, по меньшей мере семь недель, по меньшей мере восемь недель, по меньшей мере девять недель, по меньшей мере десять недель, по меньшей мере три месяца, по меньшей мере четыре месяца, по меньшей мере пять месяцев, по меньшей мере шесть месяцев, по меньшей мере семь месяцев, по меньшей мере восемь месяцев, по меньшей мере девять месяцев, по меньшей мере один год, по меньшей мере два года, по меньшей мере три года, по меньшей мере четыре года, по меньшей мере пять лет, по меньшей мере шесть лет, по меньшей мере семь лет, по меньшей мере восемь лет, по меньшей мере девять лет или по меньшей мере десять лет либо в течение всей жизни субъекта; в частности, по меньшей мере шесть недель). Например, субъект, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, демонстрирует уменьшенную зависимость от вспомогательного устройства для передвижения, такого как ходунки, кресло-коляска, фиксирующие устройства, костыли или ортопедические аппараты, в ходе лечение с помощью sALP.

Альтернативно, если введение щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы (например, sALP, например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), не приводит в результате к среднему увеличению значения 6МWT до более чем 80% от прогнозируемого значения

6МWТ (например, относительно нормального субъекта приблизительно того же возраста, того же пола и/или роста), дозировку и/или частоту введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, можно изменить с целью определения эффективного количества щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, для субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP. Например, дозировку щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, можно увеличить с, например, приблизительно 0,1-3 мг/кг/неделя или приблизительно 3-6 мг/кг/неделя до приблизительно 3-6 мг/кг/неделя или приблизительно 6-9 мг/кг/неделя. Если балл по 6МWT субъекта увеличивается выше предварительно определенного порога, то субъект может прекратить лечение и периодически наблюдаться на предмет изменений его балла по 6МWT. Если балл по 6МWT уменьшается ниже предварительно определенного порога, то терапию можно повторно начать.

# Ручная динамометрия (ННД)

Силу хвата и мышц субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который предрасположен к развитию такового, можно оценить с помощью ручной динамометрии (HHD). Например, сгибание и разгибание ноги в коленном суставе, а также сгибание, разгибание ноги в тазобедренном суставе и отведение бедра у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, или который предрасположен к развитию такового, можно измерить с применением динамометра MICROFET2<sup>TM</sup>, тогда как силу хвата у субъекта можно измерить с применением, например, динамометра хвата Јатаг. В частности, специалист удерживает динамометр неподвижно, а субъект прикладывает к динамометру максимальную силу. Данные по пиковой силе собирают в фунтах, а затем преобразуют в ньютоны (H). Затем рассчитывают значения крутящего момента, используя значение длины конечности в Ньютон-метрах. Затем значение крутящего момента можно сравнить со значением крутящего момента, например, у нормального субъекта приблизительно того же возраста, того же пола и/или того же роста, и выразить в виде процентного значения для получения значения ННD у субъекта.

Субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, со средним значением ННD, составляющим менее чем приблизительно 80% от прогнозируемого значения ННD (например, относительно нормального субъекта приблизительно того же возраста, того же пола и/или того же роста) можно подвергать лечению с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы (например, sALP, например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), например, путем введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, в течение периода лечения, составляющего по меньшей мере две недели (например, по меньшей мере три недели, по меньшей мере четыре недели, по меньшей мере пять недель, по меньшей

мере шесть недель, по меньшей мере семь недель, по меньшей мере восемь недель, по меньшей мере девять недель, по меньшей мере десять недель, по меньшей мере три месяца, по меньшей мере четыре месяца, по меньшей мере пять месяцев, по меньшей мере шесть месяцев, по меньшей мере семь месяцев, по меньшей мере восемь месяцев, по меньшей мере девять месяцев, по меньшей мере один год, по меньшей мере два года, по меньшей мере три года, по меньшей мере четыре года, по меньшей мере пять лет, по меньшей мере шесть лет, по меньшей мере семь лет, по меньшей мере восемь лет, по меньшей мере девять лет или по меньшей мере десять лет либо в течение всей жизни субъекта; в частности, по меньшей мере шесть недель). Например, субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, со средним значением HHD, составляющим менее чем приблизительно 80% от прогнозируемого значения ННО (например, приблизительно 30%, приблизительно 35%, приблизительно 40%, приблизительно 45%, приблизительно 50%, приблизительно 55%, приблизительно 60%, приблизительно 65%, приблизительно 70% или приблизительно 75% от прогнозируемого значения ННД), можно подвергать лечению с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, в течение периода лечения, составляющего по меньшей мере две недели (например, по меньшей мере три недели, по меньшей мере четыре недели, по меньшей мере пять недель, по меньшей мере шесть недель, по меньшей мере семь недель, по меньшей мере восемь недель, по меньшей мере девять недель, по меньшей мере десять недель, по меньшей мере три месяца, по меньшей мере четыре месяца, по меньшей мере пять месяцев, по меньшей мере шесть месяцев, по меньшей мере семь месяцев, по меньшей мере восемь месяцев, по меньшей мере девять месяцев, по меньшей мере один год, по меньшей мере два года, по меньшей мере три года, по меньшей мере четыре года, по меньшей мере пять лет, по меньшей мере шесть лет, по меньшей мере семь лет, по меньшей мере восемь лет, по меньшей мере девять лет или по меньшей мере десять лет либо в течение всей жизни субъекта; в частности, по меньшей мере шесть недель).

Способы могут приводит в результате к улучшению значения ННD у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР. Например, лечение с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы (например, sALP, например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), такое как лечение с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, в течение периода лечения, составляющего по меньшей мере две недели (например, по меньшей мере три недели, по меньшей мере четыре недели, по меньшей мере пять недель, по меньшей мере шесть недель, по меньшей мере десять недель, по меньшей мере три месяца, по меньшей мере девять недель, по меньшей мере пять месяцев, по меньшей мере шесть месяцев, по меньшей мере семь месяцев, по меньшей мере восемь месяцев, по меньшей мере девять месяцев, по меньшей мере один год, по меньшей мере два года, по меньшей мере два года, по меньшей мере один год, по меньшей мере два года, по меньшей

мере три года, по меньшей мере четыре года, по меньшей мере пять лет, по меньшей мере шесть лет, по меньшей мере семь лет, по меньшей мере восемь лет, по меньшей мере девять лет или по меньшей мере десять лет либо в течение всей жизни субъекта; в частности по меньшей мере шесть недель), может приводить в результате к среднему увеличению значения ННD до приблизительно 80% или больше от прогнозируемого значения ННD у субъекта (например, приблизительно 83%, приблизительно 85%, приблизительно 87%, приблизительно 90%, приблизительно 93%, приблизительно 95%, приблизительно 97% или приблизительно 100% или приблизительно 100% от прогнозируемого значения ННD).

Увеличение значения ННО у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, может сохраняться в течение всего периода введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной sALP, фосфатазы (например, например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), например, в течение периода лечения, составляющего по меньшей мере две недели (например, по меньшей мере три недели, по меньшей мере четыре недели, по меньшей мере пять недель, по меньшей мере шесть недель, по меньшей мере семь недель, по меньшей мере восемь недель, по меньшей мере девять недель, по меньшей мере десять недель, по меньшей мере три месяца, по меньшей мере четыре месяца, по меньшей мере пять месяцев, по меньшей мере шесть месяцев, по меньшей мере семь месяцев, по меньшей мере восемь месяцев, по меньшей мере девять месяцев, по меньшей мере один год, по меньшей мере два года, по меньшей мере три года, по меньшей мере четыре года, по меньшей мере пять лет, по меньшей мере шесть лет, по меньшей мере семь лет, по меньшей мере восемь лет, по меньшей мере девять лет или по меньшей мере десять лет или в течение всей жизни субъекта; в частности по меньшей мере шесть недель). Например, значение ННО увеличивается до более чем приблизительно 80% от прогнозируемого значения ННО у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как HPP, и остается на уровне  $\pm 10\%$  от увеличенного значения ННО в ходе лечения с помощью щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы.

Альтернативно, если введение щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего (например, активностью щелочной фосфатазы sALP, например, полипептида, характеризующегося последовательностью под SEQ ID NO: 1, или его варианта с по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с ним), не приводит в результате к среднему увеличению значения ННО до более чем 80% от прогнозируемого значения ННО (например, у субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР, приблизительно того же возраста, того же пола и/или роста), дозировку и/или частоту введения щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, можно изменить с целью определения эффективного количества щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, для субъекта, у которого имеется нарушение минерализации костной ткани, такое как НРР.

Например, дозировку щелочной фосфатазы или полипептида, обладающего активностью щелочной фосфатазы, можно увеличить с, например, приблизительно 0,1-3 мг/кг/неделя или приблизительно 3-6 мг/кг/неделя до приблизительно 3-6 мг/кг/неделя или приблизительно 6-9 мг/кг/неделя. Если балл по ННО субъекта увеличивается выше предварительно определенного порога, то субъект может прекратить лечение и периодически наблюдаться на предмет изменений его балла по ННО. Если балл по ННО уменьшается ниже предварительно определенного порога, то терапию можно повторно начать.

## Нательное устройство

Описываемые в данном документе способы можно выполнять в сочетании с нательным устройством. Нательное устройство можно применять для наблюдения биометрических или биохимических показаний в ходе режима лечения. Например, нательное устройство можно применять для контроля эффективности лечения и содействия определению того, следует ли прекратить введение sALP после достижения эффективности или повторно начать его, если эффективность не сохраняется, основываясь на изменении биометрических или биохимических показаний.

Нательное устройство представляет собой устройство, содержащее по меньшей мере один датчик (например, один или несколько, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более датчиков) и выполненное с возможностью ношения на теле подвергавшегося лечению субъекта, например, на руке, ноге или туловище субъекта. Нательное устройство можно носить на запястье субъекта. Датчик может представлять собой любой датчик, известный из уровня техники, и может представлять собой, например, датчик положения или движения, такой как акселерометр. В некоторых случаях один или несколько датчиков можно выбрать из группы, состоящей из датчика движения, датчика ориентации, акселерометра, гироскопа, датчика на основе микроэлектромеханических систем (МЕМЅ) (например, акселерометра на основе МЕМЅ), G-датчика, датчика наклона, датчика вращения, датчика давления, датчика температуры, датчика влажности, датчика электромиографии (ЕМG), датчика детекции света, такого как датчик LiDAR, датчика ЕІМ и их комбинаций.

Нательное устройство может содержать химический датчик для определения биохимических биомаркеров (например, PPi, PLP, PEA) у субъекта.

Нательное устройство может быть выполнено с возможностью установления на исходном уровне результата измерения биометрических показаний, выбранных из шагов, походки, активности, баллистокардиографии, частоты сердечных сокращений, объема частоты пульса, относительного систолического объема, частоты дыхания, вращения, равновесия, давления, относительной влажности, композиционного состава тела, температуры, времени прохождения импульса, кровяного давления, пульсовой сатурации и кровяного давления. Описываемые в данном документе датчики и показания можно применять для наблюдения одного или нескольких биометрических показаний, выбранных из числа шагов в день, средней частоты сердечных сокращений, наивысшей частоты

сердечных сокращений, числового значения количества физической активности, среднего количества времени, проведенного на различных уровнях активности, соотношения различных уровней активности, продолжительности различных уровней активности и продолжительности общего времени сна. Различные уровни активности можно выбрать из малоподвижного, легкого, умеренного и энергичного. Показания можно измерять в течение любого предварительно определенного количества времени в ходе режима лечения, например, 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 2 месяца, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 12 месяцев или дольше.

Нательное устройство может быть частью набора, который включает нательное устройство и sALP. Нательное устройство может включать акселерометр. Нательное устройство может быть выполнено с возможностью ношения на запястье субъекта. Набор может дополнительно включать периферийное устройство (например, смартфон). Периферийное устройство может быть выполнено с возможностью запуска программного приложения (например, мобильного приложения).

Нательное устройство можно применять в способе наблюдения режима лечения посредством sALP у субъекта путем выявления изменения по меньшей мере одного физического метрического показателя на основе биометрических показаний, полученных с помощью нательного устройства. Биометрические показания можно выбрать из количества шагов в день, средней частоты сердечных сокращений, наивысшей частоты сердечных сокращений, числового значения количества физической активности, среднего количества времени, проведенного на различных уровнях активности, соотношения различных уровней активности, продолжительности различных уровней продолжительности общего времени сна. Различные уровни активности можно выбрать из Физический (физические) малоподвижного, легкого, умеренного и энергичного. метрический (метрические) показатель (показатели) можно контролировать с помощью нательного устройства в течение периода, составляющего по меньшей мере две недели или больше (например, во время фазы лечения, или во время фазы без лечения, или во время обеих фаз).

В сочетании с описываемыми в данном документе способами, субъект может применять нательное устройство для контроля одного или нескольких описанных в данном документе биометрических показаний (например, шагов в день, средней частоты сердечных сокращений, числового значения количества физической активности) и может продолжать носить устройство в течение предварительно определенного периода времени (например, две недели или больше). Затем субъект может начать схему лечения с помощью sALP (такой как TNALP, например, слитый полипептид, содержащий sALP, последовательностью под SEQ ID NO: 1, или описываемый в данном документе вариант полипептида, такой как вариант, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) для лечения нарушения минерализации костной ткани, такого как HPP. sALP можно вводить во время первой фазы режима лечения, и биометрические показания можно отслеживать ежедневно с течением времени. Если биометрические показания указывают на улучшение состояния субъекта, такое как увеличение выше предварительно определенного порога (например, определенное число шагов в день или средняя частота сердечных сокращений), может быть определено, что лечение является или было эффективным в отношении улучшения или восстановления нормального физического состояния у субъекта. Затем субъект может войти в фазу без лечения режима лечения, в которой не вводят sALP. Субъект может продолжать носить нательное устройство для контроля биометрических показаний. Если биометрические показания указывают на ухудшение состояния субъекта, такое как уменьшение значения измеряемого метрического показателя (например, уменьшение значения ниже предварительно определенного порога), то может быть определено, что субъект должен повторно войти в фазу лечения режима лечения, в которой снова вводят средство терапии на основе sALP.

Нательное устройство может быть выполнено в виде системы, которая дополнительно включает периферийное электронное устройство, такое как смартфон, или облачную базу данных. Поскольку данные постоянно контролируются и измеряются нательным устройством, данные, собранные устройством, могут быть переданы на периферийное устройство и сохранены на периферийном устройстве или в облачной среде для хранения данных. Периферийное устройство может быть выполнено с возможностью запуска программного приложения (например, приложения для смартфона), которое предоставляет субъекту навигационную информацию с целью отслеживания изменений физиологических показаний субъекта в ходе курса лечения (например, улучшение с течением времени). Данные также могут быть переданы третьему лицу, например лечащему врачу, вводящему средство терапии на основе sALP, с целью контроля прогресса лечения субъекта.

### Лечение перелома кости

В некоторых вариантах осуществления способа sALP (такую как TNALP, например, слитый полипептид, содержащий sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1, или описываемый в данном документе вариант полипептида, такой как вариант, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотазу альфа) вводят пациенту в количестве, которое является терапевтически эффективным для лечения костных проявлений нарушения минерализации костной ткани, например, НРР. Например, у субъекта могут быть, например, искривление позвоночника, кифоз, остеопороз, ослабление костей позвоночника, истончение ребер, ротация позвонков, заклинивание позвонков, эрозия позвонков, ротационная или угловая деформация позвоночника, эктазия твердой мозговой оболочки, неполная минерализация костной ткани, повышенные уровни фосфоэтаноламина (РЕА) в крови и/или моче, гипоминерализация, гиперкальциурия, низкорослость, деформация скелета, переваливающаяся походка, боль в костях, перелом кости, слабость и отложение кристаллов дигидрата пирофосфата кальция.

В некоторых вариантах осуществления способа sALP (такую как TNALP, например, слитый полипептид, содержащий sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% или 100% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) вводят пациенту в количестве, которое является терапевтически эффективным для лечения по меньшей мере одного симптома дистрофического сколиоза, например связанного с нейрофиброматозом (NF1) дистрофического сколиоза, например, более коротких и более резких изгибов, чем наблюдаемые при недистрофическом сколиозе, патологических изменениях костей, в том числе истончении ребер, ослаблении костей позвонков, значительной ротации позвонков, заклинивании позвонков и эрозии позвонков спинномозговой жидкостью.

В одном варианте осуществления способа sALP (такую как TNALP, например, слитый полипептид, содержащий sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% или 100% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) вводят пациенту в количестве, которое является терапевтически эффективным для индукции регенерации костной ткани. Примеры индукции регенерации костной ткани включают лечение перелома кости и артродез, хирургическое сращение двух суставов. Например, данный способ применим для обеспечения спондилодеза. Хирургическая операция с целью спондилодеза можно применять для устранения трения кости о кость и/или восстановления компрессии нерва, которая вызывает боль и другие симптомы. Хирургическое сращивание костной ткани также можно применять в отношении, например, пальцев, лодыжек и ступней.

В некоторых вариантах осуществления способа sALP (такую как TNALP, например, слитый полипептид, содержащий sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1, или описываемый в данном документе вариант полипептида, такой как вариант, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) вводят пациенту, который перенес ортопедическую хирургическую операцию. Хирургическая операция может предусматривать применение по меньшей мере одного имплантата или металлоконструкции, устанавливаемых в ходе хирургической операции. У пациента может быть заболевание или нарушение или может быть одно или несколько связанных с костной тканью состояний, таких как искривление позвоночника, кифоз, остеопороз, ослабление костей позвоночника, истончение ребер, ротация позвонков, заклинивание позвонков, эрозия позвонков, ротационная или угловая деформация позвоночника, эктазия твердой мозговой оболочки, неполная минерализация костной ткани, повышенные уровни фосфоэтаноламина (РЕА) в крови и/или моче, гипоминерализация, гиперкальциурия, низкорослость, деформация скелета, переваливающаяся походка, боль в костях, перелом кости, слабость и отложение кристаллов дигидрата пирофосфата кальция. В некоторых вариантах осуществления пациенту устанавливали металлоконструкцию в кость, которая

не функционирует. Пациент мог перенести одну или несколько ортопедических хирургических операций (например, ревизионные хирургические операции), при которых не удалась фиксация имплантата. Например, пациент может иметь или может нуждаться в черепно-лицевом имплантате, зубном имплантате, спинном имплантате, заменяющей части сустава для тазобедренного, коленного, плечевого, позвоночного, локтевого или запястного суставов или в материале для фиксации кости, таком как гвоздь, винт, штифт, гайка, стержень и пластина. Пациенту также может требоваться ревизионная хирургическая операция, при этом имела место неудачная установка черепно-лицевого имплантата, зубного имплантата, спинного имплантата, заменяющей части сустава для тазобедренного, коленного, плечевого, позвоночного, локтевого или запястного суставов или материала для фиксации кости, такого как гвоздь, винт, штифт, гайка, стержень и пластина.

Ортопедические хирургические операции, которые могут предусматривать применение имплантата или металлоконструкции, включают, например, хирургические операции на кисти или верхней конечности, плече, локте, суставе (например, тотальная реконструкция сустава, например, артропластика), стопе, лодыжке, позвоночнике, хирургическая операция, связанная с онкологией опорно-двигательного аппарата, хирургическая операция, связанная со спортивными травмами, хирургическая операция по поводу травмы и пр. Другие распространенные ортопедические хирургические операции, которые могут предусматривать применение металлоконструкции или имплантата, включают, например, артроскопию колена, плеча, бедра, лодыжки, локтя или запястья, перелом и менискэктомию, артроскопию и декомпрессию плеча, освобождение запястного канала, артроскопию и хондропластику коленного сустава, удаление опорного имплантата, артроскопию коленного сустава и реконструкцию передней крестообразной связки, замену коленного сустава, восстановление после перелома шейки бедра, восстановление после атипичного перелома бедра, восстановление после вертельного перелома, дебридмент кожи/мышцы/кости/перелома, восстановление одного или обоих менисков после коленного сустава, замену тазобедренного сустава, плеча/резекцию дистального отдела ключицы, восстановление сухожилия ротаторной манжеты плеча, восстановление после перелома лучевой или локтевой (кости), ламинэктомию, восстановление после перелома лодыжки (двулодыжечного типа), артроскопию и дебридмент плеча, спондилодез поясничного отдела позвоночника, восстановление после перелома дистальной части лучевой межпозвонкового диска в нижней части спины, рассечение сухожильного влагалища пальца, восстановление после перелома лодыжки (малоберцовой кости), восстановление после перелома тела бедренной кости и восстановление после вертельного перелома. Пациент, который перенес любую из вышеперечисленных ортопедических процедур, может быть подвергнут лечению посредством sALP в соответствии с описываемыми в данном документе способами с целью улучшения восстановления костной ткани или улучшения фиксации имплантата или металлоконструкции.

sALP можно применять для восстановления после травмы костной ткани или

устранения дефекта костной ткани, которые могут возникнуть в результате хирургической операции или заболевания. Поврежденная или фрагментированная костная ткань может быть реконструирована с помощью имплантата или металлоконструкции и дополнена введением sALP до, во время или после хирургической операции по поводу устранения дефекта. Имплантат или металлоконструкция в комбинации с введением sALP могут дополнительно обеспечивать необходимую механическую поддержку оставшихся частей костных фрагментов в месте повреждения и одновременно позволить крови и образующим костную ткань клеткам из соседних тканей проникнуть в имплантат для улучшения регенерации. Например, описываемые в данном документе способы можно применять для устранения дефектов костной ткани свода черепа после нейрохирургических операций и травм, при реконструкциях костного дна глазницы и костей челюсти. Описываемые в данном документе способы также можно применять в ортопедии и при хирургической операции позвоночника, а также при фиксации фрагментированных частей кости и косметических хирургических операциях. При наличии трубчатых костей, ослабленных в следствии заболеваний, или при утрате частей кортикального вещества кости можно применять имплантат для укрепления трубчатых костей и закрытия отверстий, где утрачено кортикальное вещество кости.

sALP можно применять для восстановления атипичного перелома, такого как атипичный перелом бедра (AFF), который представляет собой поперечный перелом тела бедренной кости. AFF может быть обусловлен применением (например, длительным применением) бисфосфонатов, например, для лечения остеопороза. sALP можно применять для лечения AFF у субъекта (например, взрослого субъекта) с HPP (например, HPP с началом в детском возрасте) или без HPP. В альтернативном варианте осуществления sALP применяют для лечения NF1 и связанных с NF1 скелетных проявлений/осложнений, таких как дисплазия большеберцовой кости, псевдоартроз, фестончатость позвонков, сколиоз и другие. Лечение NF1, связанных с NF1 скелетных проявлений/осложнений и/или других плохо регенерирующих переломов можно проводить отдельно от лечения AFF или в дополнение к нему. sALP (такую как TNALP, например, слитый полипептид, содержащий sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1, или описываемый в данном документе вариант полипептида, такой как вариант, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) можно вводить субъекту, например, в дозировке, составляющей приблизительно 6 мг/кг/неделя. Введение sALP может приводить к временному повышению одного или нескольких метаболитов или биомаркеров (например, маркеров обновления костной ткани), таких как паратиреоидный гормон, N-пропептид проколлагена 1-го типа (PINP), остеокальцин и щелочная фосфатаза костной ткани (BAP). Временное повышение может сохраняться в течение по меньшей мере, например, 1 недели, 2 недель, 3 недель, 1 месяца, 2 месяцев, 3 месяцев, 4 месяцев, 5 месяцев или 6 месяцев или больше. После временного повышения уровень биомаркера может снова снизиться до исходного уровня. Это может указывать на обновление костной ткани и облегчение ремоделирования

костной ткани у субъекта. Перелом можно контролировать на предмет регенерации в течение некоторого периода времени (например, 1 недели, 2 недель, 3 недель, 1 месяца, 2 месяцев, 3 месяцев, 4 месяцев, 5 месяцев или 6 месяцев или больше), пока не будет наблюдаться достаточная регенерация, при которой можно завершить лечение. После заживления перелома можно вводить более низкую дозировку (например, 3 мг/кг/неделя) или можно производить менее частое введение доз (например, введение раз в два месяца или раз в месяц, например, в дозировке, составляющей от 0,5 мг/кг до 50 мг/кг). Субъект может проходить физиотерапию после лечения с целью возобновления нормальных уровней активности. В некоторых случаях субъект может продолжать терапию в течение длительного времени (например, пожизненно) с целью минимизации рецидива перелома или побочных эффектов, связанных с антителами к лекарственным средствам.

Описываемые в данном документе способы можно также применять в отношении костей с пониженным качеством (например, пораженных остеопорозом) или при ревизионных операциях (например, их можно применять для замены ранее установленных имплантатов). sALP (такую как TNALP, например, слитый полипептид, содержащий sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1, или описываемый в данном документе вариант полипептида, такой как вариант, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) можно применять, например, при остеосинтезе для внутренней стабилизации и/или сращения костей, например, костей с переломом (сломанных костей), либо в сочетании с механическими стабилизирующими устройствами, такими как металлические пластины, штифты, стержни, или спицы, либо по отдельности.

Описываемые в данном документе способы можно также применять для лечения дефекта костной ткани у пациента с переломом, при котором необходима компрессия. В частности, sALP можно вводить вместе с имплантатом, который можно применять для обеспечения компрессионной фиксации у пациента.

Кости, которые можно подвергать лечению в соответствии с описываемыми в данном документе способами, предусматривают, например, подсуставной перелом, дефект позвоночника или позвонка или дефект лучевой кости, локтевой кости, малоберцовой бедренной кости, кости. ключицы. плечевой кости, таза, коленной чашечки, большеберцовой кости, таранной кости, пяточной кости, ладьевидной кости, клиновидных костей, плюсневых костей, пястных костей, фаланг, лопатки, лодыжки, верхней или нижней челюсти. Имплантат или металлоконструкцию можно разместить вблизи дефекта костной ткани (например, разместив имплантат так, чтобы он контактировал с внутрикостным пространством кости). sALP (такую как TNALP, например, слитый полипептид, содержащий sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1, или описываемый в данном документе вариант полипептида, такой как вариант, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) можно вводить в любое время до, во время или после введения имплантата или металлоконструкции. sALP может быть нанесена в виде покрытия на имплантат или металлоконструкцию.

Способы лечения по настоящему изобретению также предусматривают верхненижнечелюстную или черепно-лицевую фиксацию, временную фиксацию для восстановления дефекта костной ткани при поэтапной реконструкции, суставную или плечевую фиксацию, фиксацию надколенника или фиксацию позвоночника. Например, при хирургических операциях на позвоночнике имплантат можно поместить в ножку, применять для заякоривания межпозвоночного устройства, применять для заякоривания пластин для спондилодеза и замены спейсера, применять в пораженных остеопорозом позвонках или разместить вблизи остистых отростков соседних позвонков. Метод также может предусматривать установку стержня, штифта, гвоздя, сетки или костной пластины вблизи дефекта костной ткани. sALP можно вводить в любой момент времени до, во время или после хирургической операции. sALP может быть нанесена в виде покрытия на любой имплантат или любую металлоконструкцию.

Конкретные дефекты костной ткани, которые можно подвергать лечению с применением описываемых в данном документе способов, включают, например, любую область с дефицитом костной ткани, такую как пустота, щель, выемка или другое нарушение целостности костной ткани. Дефект костной ткани может быть обусловлен, например, заболеванием или травмой. Имплантаты или металлоконструкция, описываемые в данном документе, можно применять, например, при устранении пародонтальных дефектов, в черепно-лицевой или челюстно-лицевой хирургии или реконструкции, в косметической хирургии, в хирургии кисти, при реконструкции суставов, при восстановлении после перелома, при ортопедических хирургических процедурах и при спондилодезе. Имплантаты также можно применять, например, при остеосинтезе для внутренней стабилизации и/или сращения костей, например, костей с переломом (сломанных костей), либо в сочетании с другими механическими устройствами, такими как шайбы, металлические пластины, штифты, стержни, или спицы, либо по отдельности. Например, имплантаты можно применять с шайбой для обеспечения компрессионной фиксации дефектов костной ткани и переломов кости. В частности, данные способы применимы для лечения дефектов или разломов крупных костей. Неограничивающие примеры переломов кости включают, например, стабильные переломы, поперечные переломы, косые переломы, спиральные переломы, оскольчатые переломы и открытые переломы и переломы со смещением. Иллюстративные крупные кости, которые могут потребовать фиксации перелома, включают, например, бедренную кость, большеберцовую кость, малоберцовую кость, плечевую кость, локтевую кость, лучевую кость, ребра, безымянную кость (тазовую кость) и грудину. В случае каждой из данных хирургических операций sALP можно вводить в любой момент времени до, во время или после хирургической операции.

#### Хирургическое вмешательство

Введение sALP (такую как TNALP, например, слитый полипептид, содержащий sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида,

характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) в любом из раскрытых способов может происходить в сочетании с физическим вмешательством, например, хирургическим вмешательством. Хирургическое вмешательство можно применять в случае артродеза, удаления кости, установки материала костного трансплантата или вправления сломанной кости. Хирургическое вмешательство может предусматривать применение инструментов (например, имплантацию металлоконструкции, такой как винты, стержни, пластины и металлические каркасы) для облегчения сращивания костной ткани. Хирургическое вмешательство может включать традиционную открытую хирургию, такую как открытая хирургическая операция на шее или открытая хирургическая операция на спине, минимально инвазивную хирургическую операцию или их комбинацию.

### Щелочная фосфатаза

Асфотаза альфа представляет собой слитый полипептид человеческой TNALP (hTNALP; SEQ ID NO: 1) слитый полипептид. В частности, асфотазу альфа (SEQ ID NO: 1) можно эффективно применять для лечения по меньшей мере одного симптома нарушения минерализации костной ткани, такого как HPP.

Учитывая описываемые в данном документе результаты, способы лечения не ограничены введением конкретной щелочной фосфатазы (ALP) или последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей ALP. Щелочные фосфатазы охватывают группу ферментов, которые катализируют отщепление фосфатного фрагмента (например, гидролиз пирофосфата, РРі). Существуєт четыре известных изофермента щелочной фосфатазы (ALP) млекопитающих: тканенеспецифическая щелочная фосфатаза (TNALP; дополнительно описана ниже), плацентарная щелочная фосфатаза (PLALP) (например, номера доступа P05187, NP 112603 и NP 001623), эмбриональная щелочная фосфатаза (GALP) (например, номер доступа Р10696) и кишечная щелочная фосфатаза (IALP) (например, номера доступа P09923 и NP 001622). В дополнение к иллюстративным ALP, рассматриваемым в данном документе, в раскрытом в данном документе способе можно применять любой полипептид, характеризующийся идентичной или схожей структурой каталитического центра и/или ферментативной активностью ALP (например, в качестве sALP или слитого полипептида, содержащего sALP, как определено в данном документе). Конъюгаты для доставки в костную ткань, включающие sALP, дополнительно описаны в публикациях согласно РСТ №№: WO 2005/103263 и WO 2008/138131.

К TNALP, которые можно применять в соответствии с описанными в данном документе способами, относятся, например, TNALP человека (номера доступа NP\_000469, AAI10910, AAH90861, AAH66116, AAH21289 и AAI26166), TNALP макака-резуса (номер доступа XP\_01109717), TNALP крысы (номер доступа NP\_037191), TNALP собаки (номер доступа AAF64516), TNALP свиньи (номер доступа AAN64273), мыши (номер доступа NP\_031457), TNALP коровы (номер доступа NP\_789828, NP\_776412, AAM 8209 и AAC33858) и TNALP кошки (номер доступа NP\_001036028). В частности, TNALP может представлять собой рекомбинантную человеческую TNALP (например, SEQ ID NO: 1,

асфотазу альфа; например, патенты США №№ 7763712 и 7960529), применяемую в раскрытом в данном документе способе. TNALP также может представлять собой последовательность, которая проявляет по меньшей мере приблизительно 95% идентичность с полипептидной последовательностью или последовательностью нуклеиновой кислоты вышеупомянутых TNALP.

Растворимые щелочные фосфатазы

К ALP, которую можно применять в описываемых в данном документе способах, относятся растворимые (например, внеклеточные или не связанные с мембраной) формы любой из описываемых в данном документе щелочных фосфатаз. sALP может представлять собой, например, растворимую форму человеческой тканенеспецифической щелочной фосфатазы (человеческой TNALP (hTNALP)). Способы не ограничены конкретной sALP и могут предусматривать любую sALP, которая физиологически активна, например, в отношении фосфоэтаноламина (PEA), неорганического пирофосфата (PPi) и пиридоксаль-5'-фосфата (PLP). В частности, sALP обладает каталитической способностью улучшать минерализацию скелетной структуры в костях. Способы дополнительно предусматривают нуклеиновые кислоты, кодирующие описываемые в данном документе sALP, которые можно применять в описываемом в данном документе способе.

TNALP представляет собой мембраносвязанный белок, заякоренный гликолипидной функциональной единицей на С-конце (Swiss-Prot, P05186). Данный гликолипидный якорь (GPI) добавляется на посттрансляционном этапе после удаления гидрофобного С-конца, который служит как в качестве временного мембранного якоря, так и в качестве сигнала для добавления GPI. В то время как GPI-якорь расположен в клеточной мембране, остальные части TNALP находятся вне клетки. В частности, TNALP (например, человеческую TNALP (hTNALP)) можно конструировать методами инженерии так, чтобы заменить первую аминокислоту гидрофобной С-концевой последовательности (аланин) стоп-кодоном, тем самым получая сконструированную методами инженерии hTNALP, которая содержит все аминокислотные остатки природной заякоренной формы TNALP и без мембранного GPI-якоря. Специалисту в данной области техники будет понятно, что положение мембранного GPI-якоря будет варьировать в разных ALP и может включать, например, последние 10, 12, 14, 16, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 45, 50 или больше аминокислотных остатков на С-конце полипептида. Рекомбинантная sTNALP может включать, например, аминокислоты 1-502 (18-502 при секреции), аминокислоты 1-501 (18-501 при секреции), аминокислоты 1-504 (18-504 при секреции), аминокислоты 1-505 (18-505 при секреции) или аминокислоты 1-502. Таким образом, Сконец природной ALP может быть укорочен с удалением определенных аминокислот без влияния на активность ALP.

Помимо С-концевого GPI-якоря, TNALP также содержит последовательность N-концевого сигнального пептида. N-концевой сигнальный пептид присутствует на синтезированном белке в ходе его синтеза, но отщепляется от TNALP после транслокации в ER. sALP включают как секретируемые (т. е. не имеющие N-концевого сигнала), так и не

секретируемые (т. е. имеющие N-концевой сигнал) их формы. Специалисту в данной области техники будет понятно, что положение N-концевого сигнального пептида будет варьировать в разных щелочных фосфатазах и может включать, например, первые 5, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 30 или больше аминокислотных остатков на N-конце полипептида. Специалист в данной области техники сможет спрогнозировать положение участка отщепления сигнальной последовательности, например, с помощью соответствующего компьютерного алгоритма, такого как описанный в Bendtsen et al. (*J. Mol. Biol.* 340(4):783-795, 2004) и доступный на веб-сайте по ссылке: www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/.

Способы также онжом выполнять c применением консенсусных последовательностей sALP, полученных из внеклеточного домена изоферментов ALP (например, TNALP, PALP, GCALP, IALP и т. д.). Таким образом, по аналогии с рассматриваемой выше sTNALP в настоящем изобретении также предусмотрены другие изоферменты растворимой человеческой АLP, т. е. без сигнального пептида, предпочтительно содержащие внеклеточный домен ALP. sALP также включают полипептидные последовательности, удовлетворяющие требованиям консенсусной последовательности, полученной из внеклеточного домена ALP изоферментов человеческой ALP и ортологов TNALP млекопитающих (человека, мыши, крысы, коровы, кошки и собаки), или консенсусной последовательности, полученной из внеклеточного домена ALP только ортологов TNALP млекопитающих (человека, мыши, крысы, коровы, кошки и собаки). sALP также включают такие, которые удовлетворяют требованиям схожих консенсусных последовательностей, полученных из различных комбинаций данных ортологов TNALP или изоферментов человеческой ALP. Такие консенсусные последовательности приведены, например, в WO 2008/138131.

sALP по настоящему способу могут включать не только последовательность описанных выше sALP дикого типа, но и любой полипептид, характеризующийся по меньшей мере 50% (например, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или больше) идентичностью последовательности с данными щелочными фосфатазами (например, слитый полипептид, содержащий sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа). Примеры мутаций, которые можно ввести в последовательность ALP, описаны в публикации патента США № 2013/0323244. sALP необязательно может быть гликозилирована по любому подходящему одному или нескольким аминокислотным остаткам. Кроме того, sALP может характеризоваться по меньшей мере 50% (например, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или больше) идентичностью последовательности с любой из описанных в данном документе sALP (такой как TNALP, например, слитый полипептид, содержащий sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа). sALP может содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более добавлений, делеций или замен относительно любой из описанных в данном документе sALP (такой как TNALP, например, слитый полипептид, содержащий sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа).

Слитые полипептиды, содержащие sALP

Любая из sALP (такая как TNALP, например, слитый полипептид, содержащий sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, карактеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа), линкеры, спейсеры (например, Fc-области) и функциональные единицы, обеспечивающие нацеливание на костную ткань, описанные в данном документе, могут быть объединены в слитом полипептиде, который включает структуры Z-sALP-Y-спейсер-X-Wn-V, Z-Wn-X-спейсер-Y-sALP-V, Z-sALP-Y-спейсер-V и Z-Wn-X-sALP-Y-спейсер-V. В частности, структура слитого полипептида, содержащего sALP, может представлять собой Z-sALP-Y-спейсер-X-Wn-V или Z-Wn-X-спейсер-Y-sALP-V. sALP в слитом полипептиде sALP может представлять собой полноразмерную ALP или функциональные фрагменты ALP, такие как растворимый внеклеточный домен ALP, как описано в данном документе (например, TNALP, PALP, GCALP и IALP).

Любое из X, Y, Z и V и/или спейсер могут отсутствовать, или может отсутствовать линкерная область, включающая аминокислотную последовательность по меньшей мере из одной аминокислоты. Например, X, Y, Z и V могут представлять собой дипептидную последовательность (например, лейцин-лизин или аспарагиновая кислота-изолейцин), такую как линкер из двух остатков в положении Y (например, лейцин-лизин) или линкер из двух остатков в положении X (например, аспарагиновая кислота-изолейцин). Например, слитые полипептиды, содержащие sALP, могут иметь структуру hTNALP-Fc-D10 (например, слитый полипептид, содержащий sALP, включающий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа).

Линкерная область может иметь любую последовательность и длину, которые позволяют sALP оставаться биологически активной, например, не иметь пространственных затруднений. Иллюстративные значения длины линкера составляют от 1 до 200 аминокислотных остатков, например, 1-5, 6-10, 11-15, 16-20, 21-25, 26-30, 31-35, 36-40, 41-45, 46-50, 51-55, 56-60, 61-65, 66-70, 71-75, 76-80, 81-85, 86-90, 91-95, 96-100, 101-110, 111-120, 121-130, 131-140, 141-150, 151-160, 161-170, 171-180, 181-190 или 191-200 аминокислотных остатков. Например, линкеры включают гибкие части, например, области без значительной фиксированной вторичной или третичной структуры, или состоят из них.

Иллюстративными гибкими линкерами являются богатые глицином линкеры, например, содержащие по меньшей мере 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или даже 100% остатков глицина. Линкеры также могут содержать, например, остатки серина. В некоторых случаях аминокислотная последовательность линкеров состоит только из остатков глицина и серина. Линкер необязательно может быть гликозилирован по любому подходящему одному или нескольким аминокислотным остаткам. Дополнительно, описываемый в данном документе линкер может включать любую другую последовательность или фрагмент, присоединенный ковалентной или нековалентной связью. Линкер также может отсутствовать, если спейсер (например, Fc-область) и sALP слиты вместе напрямую, без промежуточных остатков.

Применимые спейсеры включают без ограничения полипептиды, содержащие Fcобласть. Например, sALP может представлять собой слитый полипептид, содержащий Fcобласть иммуноглобулина на N-концевом или С-концевом домене. Молекула иммуноглобулина имеет структуру, хорошо известную в данной области техники. Она предусматривает две легкие цепи ( $\sim$ 23 кДа каждая) и две тяжелые цепи ( $\sim$ 50-70 кДа каждая), соединенные межцепочечными дисульфидными связями. Иммуноглобулины легко расщепляются протеолитически (например, путем расщепления папаином) на Fab (содержащие легкую цепь и домены VH и CH1 тяжелой цепи) и Fc (содержащие домены СН2 и СН3 тяжелой цепи вместе с прилегающими последовательностями). Применимые Fc-фрагменты, которые описаны в данном документе, включают Fc-фрагмент любой молекулы иммуноглобулина, в том числе IgG, IgM, IgA, IgD или IgE, а также их различных подклассов (например, IgG-1, IgG-2, IgG-3, IgG-4, IgA-1, IgA-2) от любого млекопитающего (например, человека). Например, Fc-фрагмент представляет собой человеческий IgG-1. Fcфрагменты могут содержать, например, домены СН2 и СН3 тяжелой цепи и любую часть шарнирной области. Fc-область необязательно может быть гликозилированной по любому подходящему одному или нескольким аминокислотным остаткам, которые известны специалистам в данной области техники. В слитые полипептиды, содержащие sALP, описываемые в данном документе, например, описанные в WO 2005/007809, могут быть включены сконструированные, например, не встречающиеся в природе Fc-области. Описываемый в данном документе Fc-фрагмент может характеризоваться наличием 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 50 или более добавлений, делеций или замен относительно любого из Fc-фрагментов, описанных в данном документе.

Wn может представлять собой функциональную единицу, обеспечивающую нацеливание на костную ткань, например, характеризующуюся рядом последовательных остатков аспартата (D) или глутамата (E), при этом n=1-50, например, n=3-30, например, 5-15, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 или 50. Функциональная единица, обеспечивающая нацеливание на костную ткань, если она присутствует, может быть размещена в любом месте слитого полипептида, например, на N-

конце или С-конце или рядом с ним и/или в линкерной области. Например, функциональная единица, обеспечивающая нацеливание на костную ткань, может присутствовать на С-конце слитого полипептида, содержащего sALP. sALP и слитые полипептиды также могут быть лишены функциональной единицы, обеспечивающей нацеливание на костную ткань.

Дополнительные аминокислотные остатки можно ввести в полипептид в соответствии со стратегией клонирования, применяемой для получения слитых полипептидов. Например, дополнительные аминокислотные остатки не обеспечивают наличие дополнительного GPI-заякоривающего сигнала, поддерживая полипептид в растворимой форме. Более того, любые такие дополнительные аминокислотные остатки при включении в полипептид по данным способам не обеспечивают наличие участка отщепления для эндопротеаз клетки-хозяина. Вероятность того, что сконструированная последовательность будет расщеплена эндопротеазами клетки-хозяина, можно спрогнозировать так, как описано, например, у Ikezawa (*Biol. Pharm. Bull.* 25:409-417, 2002).

Слитые полипептиды, содержащие sALP (такие как TNALP, например, слитый полипептид, содержащий sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) могут быть ассоциированы в димеры или тетрамеры. Например, два мономера sALP-Fc могут быть ковалентно связаны двумя дисульфидными связями, расположенными в шарнирных областях Fc-фрагментов. Дополнительно, слитый полипептид, содержащий sALP (например, sALP или слитый полипептид, содержащий sALP), может быть гликозилирован или пегилирован.

Получение нуклеиновых кислот и полипептидов

Нуклеиновые кислоты, кодирующие sALP (такие как TNALP, например, слитый полипептид, содержащий sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся ПО меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа), можно получить любым известным из уровня техники способом. Как правило, нуклеиновую кислоту, кодирующую требуемый слитый полипептид, получают с применением способов молекулярного клонирования и обычно помещают в вектор, такой как плазмида или вирус. Вектор применяют для трансформации нуклеиновой кислотой клетки-хозяина, подходящей для экспрессии слитого полипептида. Репрезентативные способы раскрыты, например, в Maniatis et al. (Cold Springs Harbor Laboratory, 1989). В качестве подходящих клеток-хозяев можно применять клетки многих типов, хотя предпочтительными являются клетки млекопитающих, поскольку они способны обеспечивать соответствующие посттрансляционные модификации. Клетки-хозяева могут включать, например, клетку яичника китайского хомячка (СНО), клетку L, клетку С127, клетку 3Т3, клетку ВНК, клетку COS-7 или любые другие подходящие клетки-хозяева, известные из уровня техники. Например, клетка-хозяин представляет собой клетку яичника китайского хомячка (CHO) (например, клетку CHO-DG44).

sALP (такие как TNALP, например, слитый полипептид, содержащий sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) можно получить в любых условиях, подходящих для эффективной экспрессии полипептида, представляющего собой sALP, в клетке-хозяине. Такие условия предусматривают соответствующий выбор среды, полученной с использованием таких компонентов, как буфер, бикарбонат и/или HEPES, ионы, такие как хлорид, фосфат, кальций, натрий, калий, магний, железо, источники углерода, такие как простые сахара, аминокислоты, потенциально липиды, нуклеотиды, витамины и факторы роста, такие как инсулин; стандартные коммерчески доступные среды, такие как альфа-MEM, DMEM, F12 Хэма и IMDM, с добавлением 2-4 мМ L-глутамина и 5% эмбриональной бычьей сыворотки; стандартные коммерчески доступные среды без животного белка, такие как Hyclone<sup>TM</sup> SFM4CHO, Sigma CHO DHFR-, Cambrex POWER<sup>TM</sup> CHO CD с добавлением 2-4 мМ L-глутамина. Данные среды необходимо получать без тимидина, гипоксантина и Lглицина для поддержания селективного давления, обеспечивая стабильную экспрессию белкового продукта.

# Лечение пациента посредством sALP

Пациент, которому вводят sALP, может быть любого возраста. В некоторых конкретных вариантах осуществления субъект может быть взрослым возрастом старше приблизительно 18 лет. Пациент может страдать по меньшей мере одним симптомом нарушения минерализации костной ткани, такого как HPP. Пациент может нуждаться в индуцированной регенерации и/или минерализации костной ткани. Например, пациент может страдать одним или несколькими переломами кости или псевдопереломами. Пациент может характеризоваться плохим мышечным тонусом или гипотонией и может иметь трудности ежедневных действиях, такой как сидение, стояние или ходьба. Пациент может представлять собой пациента, у которого не была диагностирована HPP и/или который никогда не получал средство терапии на основе sALP.

#### Введение и дозировка

В любом из раскрытых способов пациенту можно вводить любое количество фармацевтической композиции (например, включающей sALP или слитый полипептид, содержащий sALP, такой как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или описываемый в данном документе вариант полипептида, такой как вариант, характеризующийся по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% или 100% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа). Дозировки будут зависеть от многих факторов, в том числе способа введения и возраста пациента. Как правило, количество композиции (например, sALP или слитого полипептида, содержащего sALP, такого как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа),

содержащееся в однократной дозе, будет представлять собой количество, эффективное для лечения описываемого в данном документе пациента без индукции значительной токсичности.

Например, в любом из раскрытых способов sALP (такую как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа), описываемую в данном документе, можно вводить пациенту в индивидуальных дозах, варьирующих в диапазоне, например, от 0,01 мг/кг до 500 мг/кг (например, от 0,05 мг/кг до 500 μγ/κγ, οτ 0,1 μγ/κγ дο 20 μγ/κγ, οτ 5 μγ/κγ дο 500 μγ/κγ, οτ 0,1 μγ/κγ дο 100 μγ/κγ, οτ 10 мг/кг до 100 мг/кг, от 0,1 мг/кг до 50 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 25 мг/кг, от 1,0 мг/кг до 10 мг/кг, от 1,5 мг/кг до 5 мг/кг или от 2,0 мг/кг до 3,0 мг/кг, например, приблизительно 2,1 мг/кг, 2,2 мг/кг, 2,3 мг/кг, 2,4 мг/кг, 2,5 мг/кг, 2,6 мг/кг, 2,7 мг/кг, 2,8 мг/кг, 2,9 мг/кг, 3,0 мг/кг, 3,1 мг/кг, 3,2 мг/кг, 3,3 мг/кг, 3,4 мг/кг, 3,5 мг/кг, 3,6 мг/кг, 3,7 мг/кг, 3,8 мг/кг, 3,9 мг/кг, 4,0 мг/кг) или от 1 мкг/кг до 1000 мкг/кг (например, приблизительно от 5 мкг/кг до 1000 мкг/кг, от 1 мкг/кг до 750 мкг/кг, от 5 мкг/кг до 750 мкг/кг, от 10 мкг/кг до 750 мкг/кг, от 1 мкг/кг до 500 мкг/кг, от 5 мкг/кг до 500 мкг/кг, от 10 мкг/кг до 500 мкг/кг, от 1 мкг/кг до 100 мкг/кг, от 5 мкг/кг до 100 мкг/кг, от 10 мкг/кг до 100 мкг/кг, от 1 мкг/кг до 50 мкг/кг, от 5 мкг/кг до 50 мкг/кг или от 10 мкг/кг до 50 мкг/кг). Любую из вышеуказанных доз можно вводить один раз в день. Любую из вышеуказанных доз можно вводить один раз в неделю.

Иллюстративные дозы sALP включают, например, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 2, 2,5, 5, 10, 20, 25, 50, 100, 125, 150, 200, 250 или 500 мг/кг; или 1, 2, 2,5, 5, 10, 20, 25, 50, 100, 125, 150, 200, 250, 500, 750, 900 или 1000 мкг/кг. Для всех дозировок или диапазонов, указанных в данном документе, термин "приблизительно" можно применять для модификации данных дозировок на  $\pm 10\%$  от указанных значений или предельных значений диапазона. В частности, композиции (например, включающие sALP (такую как TNALP, например, полипентид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа)) в соответствии с настоящим изобретением можно вводить пациенту в дозах, варьирующих в диапазоне от приблизительно 0,001 мг/кг/день до приблизительно 500 мг/кг/день, от приблизительно 0,01 мг/кг/день до приблизительно 100 мг/кг/день или от приблизительно 0,01 мг/кг/день до приблизительно 20 мг/кг/день. Например, композиции на основе sALP как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) можно вводить пациенту раз в неделю в дозировке, варьирующей в диапазоне, например, от приблизительно 0,5 мг/кг/неделя до приблизительно 140 мг/кг/неделя, например, от приблизительно 0,8 мг/кг/неделя до приблизительно 50 мг/кг/неделя или от приблизительно 1 мг/кг/неделя до приблизительно

10 мг/кг/неделя (например, приблизительно 3, или приблизительно 6, или приблизительно 9 мг/кг/неделя). В частности, sALP (такую как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант 95% характеризующийся меньшей мере идентичностью полипептида, ПО последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) можно вводить в дозировке, составляющей 2 мг/кг три раза в неделю (общая доза приблизительно 6 мг/кг/неделя), 1 мг/кг шесть раз в неделю (общая доза приблизительно 6 мг/кг/неделя), 3 мг/кг три раза в неделю (общая доза 9 мг/кг/неделя), 0,5 мг/кг три раза в неделю (общая доза 1,5 мг/кг/неделя) или 9,3 мг/кг три раза в неделю (общая доза приблизительно 28 мг/кг/неделя). Дозировка будет адаптирована лечащим врачом в соответствии с общепринятыми факторами, такими как, например, степень нарушения минерализации костной ткани, такая как потребность в регенерации костной ткани, и различными параметрами пациента.

Дозировки фармацевтических композиций, включающих sALP (такие как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа), можно предоставлять согласно режимам с введением дозировки за один или несколько раз. Дозы можно вводить, например, раз в час, раз в два часа, раз в день, раза в два день, два раза в неделю, три раза в неделю, четыре раза в неделю, пять раз в неделю, шесть раз в неделю, раз в неделю, раз в две недели, раз в месяц, раз в два месяца или раз в год. Альтернативно, дозы можно вводить, например, два раза, три раза, четыре раза, пять раз, шесть раз, семь раз, восемь раз, девять раз, 10 раз, 11 раз или 12 раз в день. В частности, режим введения доз предусматривает введение три раза в неделю. Длительность режима введения доз может составлять, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 дней, недель или месяцев. Режим введения доз можно начать до, во время или после физического вмешательства, такого как хирургическое вмешательство. Количество, частоту и продолжительность приема доз будет адаптировать лечащий врач в соответствии с общепринятыми факторами, такими как степень нарушения минерализации костной ткани и различные параметры пациента.

Например, sALP или слитый полипептид, содержащий sALP (такую как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) можно составить в виде раствора для инъекции, который представляет собой прозрачный водный раствор от бесцветного до слегка желтого цвета, рН 7,4. sALP (такую как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) можно составить в концентрации, например, 12 мг/0,3 мл, 18 мг/0,45 мл, 28 мг/0,7 мл, 40

мг/1 мл или 80 мг/0,8 мл. В частности, композицию можно составить в виде 40 мг/мл раствора для инъекций, в котором каждый мл раствора содержит 40 мг sALP (например, каждый флакон содержит 0,3 мл раствора и 12 мг sALP (40 мг/мл), каждый флакон содержит 0,45 мл раствора и 18 мг sALP (40 мг/мл), каждый флакон содержит 0,7 мл раствора и 28 мг sALP (40 мг/мл), или каждый флакон содержит 1,0 мл раствора и 40 мг асфотазы альфа (40 мг/мл)). sALP (такую как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся меньшей мере 95% идентичностью ПО последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) можно составить в виде раствора для инъекции с концентрацией 100 мг/мл, в котором каждый 1 мл раствора содержит 100 мг sALP или полипептида, представляющего собой sALP (например, каждый флакон содержит 0,8 мл раствора и 80 мг асфотазы альфа (100 мг/мл)).

Например, рекомендованная дозировка sALP (такой как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) составляет 2 мг/кг веса тела, вводимые подкожно три раза в неделю, или режим введения дозировки по 1 мг/кг веса тела, вводимой подкожно шесть раз в неделю. Дополнительная информация о дозировке представлена ниже (таблицы 2-1, 2-2 и 2-3).

В некоторых вариантах осуществления, описываемых в данном документе, дозу можно определить на основе фактического веса тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления дозу можно определить на основе идеального веса тела субъекта. Фактический вес тела относится к истинному весу субъекта. Идеальный вес тела относится к расчетному весу тела субъекта, который представляет собой скорректированный вес, учитывающий физические переменные субъекта, такие как возраст, пол, рост, размер корпуса, размер запястья и т. п. Подходящие формулы для расчета идеального веса тела известны из уровня техники, например, формула G.J. Натич, формула В.J. Devine, формула J. D. Robinson и формула D.R. Miller.

Таблица 2-1. Введение доз асфотазы альфа по 2 мг/кг три раза в неделю

Вес тела (кг)*	Доза для инъекции	Объем для инъекции	Конфигурация флакона
3	6 мг	0,15 мл	18 мг/0,45 мл
4	8 мг	0,2 мл	18 мг/0,45 мл
5	10 мг	0,25 мл	18 мг/0,45 мл
6	12 мг	0,3 мл	18 мг/0,45 мл
7	14 мг	0,35 мл	18 мг/0,45 мл
8	16 мг	0,4 мл	18 мг/0,45 мл
9	18 мг	0,45 мл	18 мг/0,45 мл
10	20 мг	0,5 мл	28 мг/0,7 мл
15	30 мг	0,75 мл	40 мг/мл
20	40 мг	1 мл	40 мг/мл
25	50 мг	1,25 мл	Два флакона по 28 мг/0,7 мл
30	60 мг	1,5 мл	Два флакона по 40 мг/ мл
35	70 мг	1,75 мл	Два флакона по 40 мг/ мл
40	80 мг	0,8 мл	80 мг/0,8 мл
50	100 мг	1 мл	Два флакона по 80 мг/0,8 мл
60	120 мг	1,2 мл**	Два флакона по 80 мг/0,8 мл
70	140 мг	1,4 мл**	Два флакона по 80 мг/0,8 мл
80	160 мг	1,6 мл**	Два флакона по 80 мг/0,8 мл

Таблица 2-2. Введение доз асфотазы альфа по 1 мг/кг шесть раз в неделю

	Доза для	Объем для	мі/кі шесть раз в неделю — — — — — — — — — — — — — — — — — — —
Вес тела (кг)*	инъекции	инъекции	Конфигурация флакона
3	3 мг	0,08 мл	18 мг/0,45 мл
4	4 мг	0,1 мл	18 мг/0,45 мл
5	5 мг	0,13 мл	18 мг/0,45 мл
6	6 мг	0,15 мл	18 мг/0,45 мл
7	7 мг	0,18 мл	18 мг/0,45 мл
8	8 мг	0,2 мл	18 мг/0,45 мл
9	9 мг	0,23 мл	18 мг/0,45 мл
10	10 мг	0,25 мл	18 мг/0,45 мл
15	15 мг	0,38 мл	18 мг/0,45 мл
20	20 мг	0,5 мл	28 мг/0,7 мл
25	25 мг	0,63 мл	28 мг/0,7 мл
30	30 мг	0,75 мл	40 мг/мл
35	35 мг	0,88 мл	40 мг/мл
40	40 мг	1 мл	40 мг/мл
50	50 мг	0,5 мл	80 мг/0,8 мл
60	60 мг	0,6 мл	80 мг/0,8 мл
70	70 мг	0,7 мл	80 мг/0,8 мл
80	80 мг	0,8 мл	80 мг/0,8 мл
90	90 мг	0,9 мл	Два флакона по 80 мг/0,8 мл
100	100 мг	1 мл	Два флакона по 80 мг/0,8 мл

Таблица 2-3. Введение доз асфотазы альфа по 3 мг/кг три раза в неделю (только в случае начала HPP в перинатальном/младенческом возрасте)

Вес тела (кг)**	Доза для инъекции	Объем для инъекции	Конфигурация флакона
3	9 мг	0,23 мл	18 мг/0,45 мл
4	12 мг	0,3 мл	18 мг/0,45 мл
5	15 мг	0,38 мл	18 мг/0,45 мл
6	18 мг	0,45 мл	18 мг/0,45 мл
7	21 мг	0,53 мл	28 мг/0,7 мл
8	24 мг	0,6 мл	28 мг/0,7 мл
9	27 мг	0,68 мл	28 мг/0,7 мл
10	30 мг	0,75 мл	40 мг/мл
15	45 мг	1,13 мл***	Два флакона по 28 мг/0,7 мл
20	60 мг	1,5 мл***	Два флакона по 40 мг/мл
25	75 мг	1,88 мл***	Два флакона по 40 мг/мл

В некоторых случаях введение sALP (такой как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) согласно настоящему изобретению может привести в результате к одному или нескольким из следующих эффектов: увеличению регенерации костной ткани у пациента и/или изменению минеральной плотности кости, которое не поддается выявлению или увеличено.

В любом из аспектов, раскрытых в данном документе, пациент характеризуется переносимостью к введению sALP (такой как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа), например, отсутствие или снижение частоты нежелательных явлений, выбранных из группы, состоящей из эритемы в месте инъекции, уменьшения гемоглобина, лихорадки, пневмонии, инфекции верхних дыхательных путей, отита среднего уха, рвоты, запора, диареи, потери зубов, назофарингита, сыпи, зубного кариеса и раздражительности.

В любом из раскрытых аспектов sALP (такую как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) составляют в фармацевтической композиции с по меньшей мере одним фармацевтически приемлемым носителем, таким как солевой раствор (например, хлорида натрия и фосфата натрия). Например, по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель может предусматривать 150 мМ хлорида натрия и 25 мМ фосфата натрия.

В любом из вышеупомянутых аспектов sALP (такая как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) физиологически активна в отношении PEA, PPi и PLP, является каталитически компетентной для обеспечения улучшения минерализации скелетной структуры в кости

и/или является растворимым внеклеточным доменом щелочной фосфатазы.

#### Составы

Фармацевтические композиции, включающие sALP (такие как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) могут быть составлены в соответствии со стандартными способами. Получение фармацевтических составов является хорошо разработанной областью техники и дополнительно описано например, в Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, Lippincott, Williams & Wilkins (ISBN: 0683306472); Ansel et al. (1999) Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th Edition, Lippincott Williams & Wilkins Publishers (ISBN: 0683305727); и Kibbe (2000) Handbook of Pharmaceutical Excipients, American Pharmaceutical Association, 3rd Edition (ISBN: 091733096X). Например, композиция на основе sALP (такой как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) может быть составлена, например, в виде буферного раствора с подходящей концентрацией, и быть подходящей для хранения при 2-8°C (например, 4°C). Композицию также можно составить для хранения при температуре ниже 0°C (например, -20°C или -80°C). Композицию можно дополнительно составить для хранения в течение срока до 2 лет (например, одного месяца, двух месяцев, трех месяцев, четырех месяцев, пяти месяцев, шести месяцев, семи месяцев, восьми месяцев, девяти месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 1 года, 1½ года или 2 лет) при 2-8°С (например, 4°С). Таким образом, раскрываемые в данном документе композиции могут быть стабильными при хранении в течение по меньшей мере 1 года при 2-8°С (например, 4°C).

Фармацевтические композиции, включающие sALP (такие как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа) могут быть представлены в разнообразных формах. Данные формы включают, например, жидкие, полутвердые и твердые лекарственные формы, такие как жидкие растворы (например, растворы для инъекций и инфузий), дисперсии или суспензии, таблетки, пилюли, порошки, липосомы и суппозитории. Предпочтительная форма отчасти зависит от предполагаемого способа введения и области терапевтического применения.

Например, композиции, предназначенные для системной или местной доставки, могут быть представлены в форме растворов для инъекций или инфузий. Соответственно, композиции, включающие sALP (такие как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью

последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа), могут быть составлены для введения парентеральным способом (например, путем подкожной, внутривенной, внутрибрюшинной или внутримышечной инъекции).

Фармацевтические композиции, включающие sALP (такие как TNALP, например, слитый полипептид, содержащий sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа), могут быть составлены в форме раствора, микроэмульсии, дисперсии, липосомы или другой упорядоченной структуры, пригодной для стабильного хранения при высокой концентрации. Стерильные растворы для инъекций можно получить путем включения описываемой в данном документе композиции в необходимом соответствующий растворитель с одним или комбинацией перечисленных выше ингредиентов, при необходимости, с последующей стерилизацией фильтрацией. Обычно дисперсии получают путем включения описываемой в данном документе композиции в стерильную среду-носитель, которая содержит основную дисперсионную среду и другие необходимые ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для получения стерильных растворов для инъекций способы получения предусматривают вакуумную сушку и лиофилизацию, которые позволяют получить порошок из описываемой в данном документе композиции плюс любого дополнительного требуемого ингредиента (см. в данном документе) из их предварительно отфильтрованного до стерильного состояния раствора. Надлежащую текучесть раствора можно поддерживать, например, путем применения такого средства для эмульгирования, как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и путем применения поверхностноактивных веществ. Пролонгированную абсорбцию композиций для инъекций можно обеспечить путем включения в композицию реагента, который замедляет абсорбцию, например, моностеаратных солей и желатина.

Описываемые в данном документе фармацевтические композиции также можно составить в иммунолипосомные композиции. Такие составы можно получить способами, известными из уровня техники, такими как, например, способы, описанные в работе Epstein et al. (1985) *Proc Natl Acad Sci USA* 82:3688; Hwang et al. (1980) *Proc Natl Acad Sci USA* 77:4030; а также в патентах США № 4485045 и № 4544545. Липосомы с увеличенным временем циркуляции раскрыты, например, в патенте США № 5013556.

Фармацевтические композиции, включающие sALP (такие как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант полипептида, характеризующийся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа), также могут быть составлены с носителем, который будет обеспечивать защиту композиции (например, полипептид, представляющий собой sALP, или слитый полипептид, содержащий sALP) от быстрого высвобождения, например, в состав с контролируемым высвобождением, в том числе имплантаты и микрокапсулированные

системы доставки. Можно применять биоразлагаемые биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, сложные полиортоэфиры и полимолочная кислота. Из уровня техники известно много способов получения таких составов. См., например, J.R. Robinson (1978) *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, Marcel Dekker, Inc., New York.

При необходимости применения композиций в комбинации со вторым активным средством композиции можно составить совместно со вторым средством или композиции можно составить отдельно от состава со вторым средством. Например, соответствующие фармацевтические композиции можно смешивать, например, непосредственно перед введением, и вводить вместе или можно вводить по отдельности, например, в одно и то же время или в разные моменты времени.

#### Носители/среды-носители

Препараты, содержащие sALP (такую как TNALP, например, полипептид, представляющий собой sALP, с последовательностью под SEQ ID NO: 1 или вариант 95% характеризующийся мере идентичностью полипептида, ПО меньшей последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1, например, асфотаза альфа), можно предоставлять пациенту, такому как пациент с по меньшей мере одним симптомом нарушения минерализации костной ткани (например, НРР), в комбинации с фармацевтически приемлемыми стерильными водными или неводными растворителями, эмульсиями. Примерами неводных растворителей суспензиями или пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительное масло, рыбий жир и органические сложные эфиры для инъекций. Водные носители включают воду, водно-спиртовые растворы, эмульсии или суспензии, в том числе солевые растворы и забуференные медицинские парентеральные среды-носители, в том числе раствор хлорида натрия, раствор декстрозы Рингера, раствор декстрозы плюс раствор хлорида натрия, раствор Рингера, содержащий лактозу, или нелетучие масла. Например, фармацевтически приемлемый носитель может содержать хлорид натрия и/или фосфат натрия, при этом композиция будет включать, например, приблизительно 150 мМ хлорида натрия и/или приблизительно 25 мМ фосфата натрия, рН 7,4.

Среды-носители для внутривенного введения могут включать средства для восполнения жидкости и питательных веществ, средства для восполнения электролитов, такие как средства на основе раствора декстрозы Рингера, и т. п. Сюда можно отнести фармацевтически приемлемые соли, например соли неорганических кислот, такие как гидрохлориды, гидробромиды, фосфаты, сульфаты и т. п.; а также соли органических кислот, такие как ацетаты, пропионаты, малонаты, бензоаты и т. п. Дополнительно в таких средах-носителях могут присутствовать вспомогательные вещества, такие как смачивающие или эмульгирующие средства, буферные вещества для поддержания рН и т. п. Подробное рассмотрение фармацевтически приемлемых носителей доступно в Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Pub. Co., N.J. 1991).

#### Сроки проведения фазы лечения

Описываемые в данном документе способы включают введение средства терапии на основе sALP во время режима лечения, который может включать фазу лечения (например, одну или несколько фаз лечения), которая предусматривает введение sALP нуждающемуся в этом субъекту, и фазу без лечения (например, одну или несколько фаз без лечения), в которой прекращают введение sALP. Например, субъекту можно вводить sALP во время первой фазы лечения, которая продолжается по меньшей мере 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 2 месяца, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев, 6 месяцев, 12 месяцев, 2 года, 3 года, 4 года, 5 лет, 6 лет, 7 лет, 8 лет, 9 лет, 10 лет или дольше. Во время первой фазы лечения субъекту можно вводить sALP, например, один или несколько раз в день, неделю, месяц или год. Периодически, во время первой фазы лечения субъекта можно наблюдать посредством по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани, например, как описано в данном документе. Когда измеряемое значение метрического показателя достигает предварительно определенного порога (например, улучшение на по меньшей мере приблизительно 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% или больше или улучшение до, например, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 99% или 100% от соответствующего значения у нормального субъекта), то может быть определено, что субъект может прекратить терапию и может войти в фазу без лечения режима лечения. Фаза без лечения может продолжаться по меньшей мере 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 2 месяца, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев, 6 месяцев, 12 месяцев, 2 года, 3 года, 4 года, 5 лет, 6 лет, 7 лет, 8 лет, 9 лет, 10 лет или дольше.

Периодически, во время фазы без лечения субъекта можно наблюдать посредством по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани, например, как описано в данном документе. Когда измеряемое значение метрического показателя снижается до или ниже предварительно определенного порога (например, снижение на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% или больше или снижение до, например, 90%, 80%, 70%, 60%, 50% или меньше от соответствующего значения у нормального субъекта), то может быть определено, что субъект должен повторно войти в фазу лечения режима лечения, в которой снова вводят sALP. Если у субъекта не наблюдается снижение ниже предварительно определенного порога, то субъект может оставаться в фазе без лечения режима лечения. Будет понятно, что продолжительность каждой фазы лечения или фазы без лечения может варьировать для любого взятого пациента в зависимости от ряда факторов, таких как применяемый метрический показатель и/или предварительно определенный порог. Таким образом, продолжительность фаз может быть определена опытным путем и может отличаться друг от друга или совпадать друг с другом. Например, первая фаза лечения может быть длиннее или короче, чем вторая фаза лечения.

#### ПРИМЕРЫ

Следующие примеры предназначены лишь для иллюстрации и никоим образом не

подразумеваются как ограничивающие каким-либо образом настоящее изобретение.

# Пример 1. Клиническое исследование диапазона доз с участием взрослых

Асфотазу альфа вводили в дозе, составляющей 3,5 мг/кг, в исследовании диапазона доз, в которое были включены 6 пациентов-подростков и 13 взрослых пациентов с НРР в возрасте от ≥13 до ≤65 лет на момент до включения в исследование. Тринадцать пациентов рандомизировали для получения асфотазы альфа (7 пациентов для получения 2,1 мг/кг/qw и 6 пациентов для получения 3,5 мг/кг/qw) и 6 пациентов рандомизировали в не подвергавшуюся лечению контрольную группу. У всех пациентов в группе комбинированного лечения (2,1 мг/кг/qw и 3,5 мг/кг/qw) наблюдали примерно в 2 раза большее уменьшение уровней РРі в плазме крови по сравнению с контрольной группой после 24 недель лечения (среднее изменение -2,100 мкМ по сравнению с -1,052 мкМ у контрольных пациентов); однако данное различие не было статистически значимым (р=0,0715), поскольку уменьшение уровня РРі в плазме крови наблюдали у контрольного пациента, который получал высокую дозу витамина D и имел повышенное значение PPi на исходном уровне (12,1 мкМ). При исключении данного пациента из полного набора данных для анализа (FAS) была продемонстрирована статистическая значимость (р=0,0044). После первых 24 недель лечения все пациенты получали общую недельную дозу, составляющую 3,5 мг/кг, в течение дополнительных 24 недель. Среднее (SD) изменение уровня РРі в плазме крови от исходного уровня до последнего общего воздействия у всех пациентов при дозе, составляющей 3,5 мг/кг/неделя, составляло -1,859 мкМ (2,8071).

Из 13 пациентов, которые получали асфотазу альфа, 10 пациентов были взрослыми (большинство [76,9%] в возрасте > 50 лет). У взрослых пациентов (n=5), которые получали общую недельную дозу, составляющую 3,5 мг/кг, через 24 недели лечения наблюдали уменьшение уровня РРі в плазме крови (среднее изменение -2,258 мкМ). Асфотаза альфа в ходе данного исследования в целом хорошо переносилась всеми 19 пациентами.

# Пример 2. Клиническое исследование с участием взрослых с функциональными патологиями

Гипофосфатазия имеет широкий спектр клинических проявлений у взрослых. Взрослым пациентам с HPP зачастую в течение многих лет ставят неправильный диагноз, при этом для надлежащего лечения решающее значение имеет точный диагноз HPP (Hogler et al. *BMC Musculoskelet Disord*. 20:80, 2019). В результате несоответствующие виды терапии (например, высокие дозы витамина D, чрезмерная добавка кальция, аналоги паратиреоидного гормона и (бисфосфонаты)) могут быть неэффективными или даже ухудшать клинические состояния, а также признаки и симптомы (Conti et al. *Clin Cases Miner Bone Metab*.14:230-234, 2017). Кроме того, тяжелые функциональные патологии зачастую присутствуют у пациентов с HPP, в том числе проблемы с подвижностью (нарушения ходьбы и походки), мышечная слабость и неспособность осуществлять ADL, которые в совокупности сильно влияют на качество жизни пациентов. Долгосрочные клинические последствия включают повторные и незаживающие переломы, бремя ортопедических/стоматологических хирургических вмешательств, слабость, артрит,

невозможность удалить устройства внутренней фиксации (вследствие риска повторного перелома), боль и потребность в амбулаторных вспомогательных устройствах (например, креслах-колясках, ходунках на колесиках и тростях) (Kishnani et al. Annual Meeting of the Endocrine Society; 2019; New Orleans). Независимо от возраста, в котором впервые проявляется HPP, высокое бремя заболевания может привести к уменьшению качества жизни, связанного со здоровьем, которое может дополнительно уменьшаться с течением жизни пациента (Szabo et al. *Orphanet J Rare Dis.* 14:85, 2019; Weber et al. *Metab.: clin. and exper.* 65(10):1522-1530, 2016). Признаки и/или симптомы HPP могут также затрагивать психическое и эмоциональное здоровье детей и взрослых с данным заболеванием, что ассоциировано со значительным использованием ресурсов здравоохранения (Colazo JM, Hu JR, Dahir KM, Simmons JH. Neurological symptoms in Hypophosphatasia. Osteoporos Int. 2019;30(2):469-480; Jenkins-Jones et al. *Annual Meeting of the Amer. Soc. Bone and Mineral Res.*; 2018; Montréal, QC, Canada).

У взрослых пациентов с высоким бременем заболевания (т. е. НРР с началом в детском возрасте с отсроченной диагностикой) зачастую отмечаются множественные переломы нижних конечностей (как правило, переломы или псевдопереломы бедренных или плюсневых костей; одно-/двусторонние, в латеральном или медиальном направлении подвертельной области диафиза) с плохой регенерацией, что может вызвать сильную боль, болезненность, ограниченную подвижность и низкое качество жизни (Genest et al. *Osteoporos Int.* 29:1815-1825, 2018; Marini et al. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 14:324-328, 2017. Пациенты также сообщали о хронической мышечной боли, снижении мышечной силы и работоспособности, связанном с мышечной слабостью, и боли в костях без переломов (Conti et al. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 14:230-234, 2017).

До сих пор основное внимание уделяли диагностике и лечению пациентов детского возраста. Фактически, существует значительный пробел в данных о функциональных результатах у взрослых пациентов, в том числе пациентов с HPP с началом в детском возрасте, которым, скорее всего, не был поставлен какой-либо диагноз до тех пор, пока не возникли серьезные осложнения, или которые не были сочтены подходящими для ERT, такой как асфотаза альфа. Данное исследование предоставит дополнительные данные об эффекте асфотазы альфа у взрослых пациентов с HPP с началом в детском возрасте, которые имеют значительные физические функциональные ограничения вследствие своего заболевания. В этом исследовании также будут изучены эффекты режима с более низкой дозировкой асфотазы альфа после режима с нагрузочной дозировкой, составляющей 6 мг/кг/неделя.

Таблица 3. Цели и конечные точки

Цели	Конечные точки

(	
Первичные (оценить ТОЛЬКО у пациентов	в в группе 1 [пациентов, которым вводили
асфотазу альфа 6 мг/кг/qw в течение в общей	сложности 36 недель])
Оценить эффект асфотазы альфа на	Изменение значений концентрации РРі в
значения концентрации РРі в плазме крови	плазме крови от исходного уровня до
на неделе 36.	недели 36
Ключевые вторичные (оценить у пациенто	в в группе 1 [пациентов, которым вводили
асфотазу альфа 6 мг/кг/qw в течение в об	щей сложности 36 недель)] или группе 2
[пациентов, которым вводили асфотазу а.	льфа 6 мг/кг/qw в течение 12 недель с
последующими введениями 3,6 мг/кг/qw в те	чение 24 недель] согласно указанному)
Оценить эффект асфотазы альфа на	Изменение значений концентрации РРі в
значения концентрации РРі в плазме крови в	плазме крови в группе 2 от исходного
группе 2 на неделе 36.	уровня до недели 36
Оценить эффект асфотазы альфа на балл по	Изменение балла по PCS SF-36 от
	исходного уровня до недели 36 в группах 1
PCS SF-36 в группах 1 и 2 на неделе 36	и 2
Оценить эффект асфотазы альфа на	Изменение результатов теста повторного
результаты теста повторного вставания со	вставания со стула (компонент SPPB) от
стула (компонент SPPB) в группах 1 и 2 на	исходного уровня до недели 36 в группах 1
неделе 36	и 2

Остальные вторичные (оценить у пациентов в группе 1 [пациентов, которым вводили асфотазу альфа 6 мг/кг/qw в течение в общей сложности 36 недель)] или группе 2 [пациентов, которым вводили асфотазу альфа 6 мг/кг/qw в течение 12 недель с последующими введениями 3,6 мг/кг/qw в течение 24 недель] согласно указанному)

Оценить эффект асфотазы альфа физическую функцию и боль в группах 1 и 2 на неделе 36

Изменение от исходного уровня до недели 36 в группах 1 и 2 в отношении следующих:

- Результаты теста TUG
- Балл по BPI вопрос 3 (наиболее сильная боль)
- Балл по LEFS

Оценить эффект асфотазы альфа результаты теста повторного вставания со стула (компонент SPPB) в группах 1 и 2 на неделе 24

Изменение результатов теста повторного вставания со стула (компонент SPPB) от исходного уровня до недели 24 в группах 1 и2

Оценить эффект асфотазы альфа на балл по PCS SF-36 в группах 1 и 2 на неделе 24

Изменение балла по PCS SF-36 от исходного уровня до недели 24 в группах 1 и2

# Безопасность (оценить у всех пациентов)

Оценить безопасность, переносимость и потенциал иммуногенности асфотазы альфа в течение периода до 36 недель

Частота возникновения TEAE, TESAE и **AESI** (IAR, реакции включая гиперчувствительности ISR); липодистрофия; эктопическая кальцификация; иммуногенность (например, результаты ADA); результаты физикального обследования; показатели жизненно важных функций и клиниколабораторные результаты

Исследовательские (оценить у пациентов в группе 1 [пациентов, которым вводили асфотазу альфа 6 мг/кг/qw в течение в общей сложности 36 недель)] или группе 2 [пациентов, которым вводили асфотазу альфа 6 мг/кг/qw в течение 12 недель с последующими введениями 3,6 мг/кг/qw в течение 24 недель] согласно указанному)

Оценить активность асфотазы альфа в Изменение активности асфотазы альфа в сыворотке крови в группах 1 и 2 на неделях | сыворотке крови от исходного уровня до

12, 24 и 36	недель 12, 24 и 36 в группах 1 и 2
Оценить эффект асфотазы альфа на уровни	Изменение соотношения PLP к PL от
PL и PLP в плазме крови в группах 1 и 2 на	исходного уровня до недель 12, 24 и 36 в
неделях 12, 24 и 36	группах 1 и 2
Оценить эффект асфотазы альфа на	Изменение уровней РРі в плазме крови в
концентрацию РРі в плазме крови в группах	группах 1 и 2 от исходного уровня до
1 и 2 на неделе 12	недели 12
Оценить эффект асфотазы альфа на	Изменение результатов теста повторного
результаты теста повторного вставания со	вставания со стула (компонент SPPB) от
стула (компонент SPPB) в группах 1 и 2 на	исходного уровня до недели 12 в группах 1
неделе 12	и 2
Оценить эффект асфотазы альфа на балл по	Изменение балла по PCS SF-36 от
PCS SF-36 в группах 1 и 2 на неделе 12	исходного уровня до недели 12 в группах 1
Too or or promise in 2 na negate 12	и 2
	Изменение от исходного уровня до недели
	12 и недели 24 в группах 1 и 2 в отношении
Оценить эффект асфотазы альфа на	следующих:
физическую функцию и боль в группах 1 и 2	- Результаты теста TUG
на неделях 12 и 24	- Балл по BPI - вопрос 3 (наиболее
	сильная боль)
	- Балл по LEFS
	Изменение от исходного уровня до недели
Оценить эффект асфотазы альфа на	36 в HR-рQCT (общая, объемная ВМD
качество/микроархитектуру костной ткани в	трабекулярного и кортикального вещества,
группах 1 и 2 на неделе 36.	толщина кортикального вещества,
	жесткость, число трабекул, разделение
	трабекул и толщина трабекул)
Оценить эффект асфотазы альфа на маркеры	Изменение уровня остеокальцина, P1NP и
обновления костной ткани в группах 1 и 2 на	sCTX от исходного уровня до недель 12 и
неделях 12 и 36	36 в группах 1 и 2
Оценить эффект асфотазы альфа на	Изменение общего балла по SF-36 от
связанное со здоровьем качество жизни в	исходного уровня до недель 12, 24 и 36 в
группах 1 и 2 на неделях 12, 24 и 36	группах 1 и 2
Оценить долю регенерировавших	Доля регенерировавших переломов по

переломов или псевдопереломов у пациентов с замедленной регенерацией переломов или псевдопереломов нижней (нижних) конечности (конечностей) в группах 1 и 2 на неделе 36	данным рентгенологической оценки у пациентов с замедленной регенерацией активных переломов или псевдопереломов на неделе 36 в группах 1 и 2
Оценить время до регенерации перелома у пациентов с замедленной регенерацией переломов или псевдопереломов нижней (нижних) конечности (конечностей) в группах 1 и 2 на неделях 12, 24 и 36	Время до сращения/регенерации перелома по результатам рентгенологической оценки на неделях 12, 24 и 36 в группах 1 и 2
Оценить эффект асфотазы альфа на PGI-I в группах 1 и 2 на неделе 36.	В группах 1 и 2:  - Балл по PGI-I на неделе 36  - Доля пациентов, которые сообщали о статусе "весьма намного лучше" и "намного лучше" на неделе 36 в опроснике PGI-I

<sup>а</sup> Замедленную регенерацию определяют как активный перелом или псевдоперелом без признаков регенерации в течение по меньшей 3 месяцев до скрининга

Сокращения: ADA=антитело к лекарственному средству; AESI=нежелательное явление, представляющее особый интерес; ВМD=минеральная плотность кости; BPI=краткий опросник выраженности болевого HRдля оценки синдрома; рQСТ=периферическая количественная компьютерная томография высокого разрешения; IAR=связанная с инъекцией реакция; ISR=реакция в месте инъекции; LEFS=шкала функций нижних конечностей; P1NP=N-концевой пропептид проколлагена I типа; PCS=обобщение PGI-I=общее физического компонента; впечатление пациентов об улучшении; PL=пиридоксаль; PLP=пиридоксаль-5'-фосфат; PPi=неорганический пирофосфат; qw=paз в неделю; sCTX=сывороточный коллаген 1 типа с С-телопептидной сшивкой; SF-36=краткая 36 пунктов; SPPВ=краткая батарея тестов физического форма опросника из функционирования; ТЕАЕ=нежелательное явление, возникающее во время лечения; TESAE=серьезное нежелательное явление, возникающее во время лечения; TUG=временной тест "встань и иди".

#### Общий дизайн.

Пациенты, соответствующие критериям включения в исследование, будут случайным образом распределены в соотношении 1:1 либо в группу 1 (n=25), либо в группу 2 (n=25). Всем пациентам начнут вводить дозы асфотазы альфа 6 мг/кг/qw на неделе 1. На неделе 13 пациенты в группе 1 будут продолжать получать асфотазу альфа в дозе, составляющей 6 мг/кг/qw, в течение 24 недель, и пациентам в группе 2 начнут вводить дозы

асфотазы альфа в дозе, составляющей 3,6 мг/кг/qw, в течение 24 недель. Конкретные моменты времени введения доз будут указаны в Руководстве по проведению процедур в ходе исследования. Ожидается, что исследование завершат примерно 36 (75%) пациентов.

#### Число пациентов.

Приблизительно 50 пациентов будут рандомизированы (25 пациентов в группу 1 и 25 пациентов в группу 2) в нескольких географических регионах.

### Группы и продолжительность лечения.

Асфотазу альфа будут поставлять в виде стерильного водного раствора в 80-мг флаконах (с дозировкой 100 мг/мл) и будут вводить подкожно в общей недельной дозе, составляющей 6 мг/кг (2 мг/кг 3 раза в неделю), или общей недельной дозе, составляющей 3,6 мг/кг (1,2 мг/кг 3 раза в неделю). Если показано более частое введение доз (например, на основании веса или проблем с переносимостью вследствие реакции, связанной с инъекцией, или реакции в месте инъекции), пациент может перейти на схему введения доз 6 раз в неделю.

Ожидается, что общая продолжительность исследования составит примерно 50 недель: до 10 недель скринингового периода, 36 недель периода лечения и 30 дней последующего наблюдения посредством телефонных звонков.

Схема

Блок-схема дизайна исследования показана на фиг. 1.Таблица 4. График мероприятий

	Скрининговый период	Период исследования на исходном уровне					Пе	риод	лечеі	кин					Последующее наблюдение $^3$
Место	В клинике	В клинике	В клинике	Удаленно	В клинике	Удаленно	В клинике	Удаленно	В клинике	Удаленно	В клинике	Удаленно	В клинике	В клинике	Удаленно
Визит <sup>1</sup>	1	2	3	4-9	10	11- 13	14	15- 21	22	23- 25	26	27- 37	38	ET	39/ E OS
Неделя( недель)	От - 10 до -1	0	1	<b>2-</b> 7	8	9- 11	12	13- 19	20	21- 23	24	25- 35	36	N A	40
Времен	NA	±7	±7	NA	±7	NA	±7	NA	±7	NA	±7	NA	±7	N	N

ные												A	A
интерва													
лы (в													
днях)													
Соответс	гвие к	ритер	иям	вклю	чени	яви	сслед	ован:	ие				
Информ													
ированн	X												
oe	Λ												
согласие													
Включен													
ие/искл	X	X											
ючение													
Лаборат													
орные													
тесты	X												
при	Λ												
скринин													
ге													
Анамнез													
пациент	X												
a <sup>4</sup>													
Демогра													
фически	X												
e	11												
данные5													
Диагноз	X												
HPP <sup>6</sup>	-												
Анализ													
мутаций	X												
гена	-												
HPP <sup>7</sup>													
Почечна													
Я	X												
патологи													

я (eGFR)															
Рандомиз	ация														
Рандоми		X													
зация															
Исполнен	ие исс	ледов	зания	I											
Результа															
ты															
физикал	X	X			X		X				X		X	X	
ьного	21				<b>A</b>		71				1		71	71	
обследов															
ания <sup>8</sup>															
Показате															
ли															
жизненн															
o	X	X	X		X		X		X		X		X	X	
важных															
функций															
9															
Bec	X	X	X		X		X		X		X		X	X	
тела <sup>10</sup>	21				1		21				21		2 %	21	
Анализ															
сыворот															
ки крови	X	X	X		X		X		X		X		X	X	
на															
беремен															
ность <sup>11</sup>															
Анализ															
мочи на				X				X				X			
беремен								_				_			
ность11															
Введение	исслед	цуемо	го ле	карст	гвенн	юго с	редс	гва <sup>12</sup>		Γ					ı
Асфотаз   X X X X X X X X X X X X X X X X X X															
а альфа															
Оценки б	езопас	ности	і/лаб	орато	рны	е анал	тизы	13							

графиче ская X X X Визуализ ация <sup>14</sup> Химия <sup>15</sup> X X X X X X X X X X X X X X X X X X X	Рентгено															
визуализ ация 14  Химия 15  Х Х Х Х Х Х Х Х Х Х Х Х Х Х Х Х Х Х Х	графиче															
ация <sup>14</sup> Химия <sup>15</sup> Х X X X X X X X X X X X X X X X X X X	ская	X	X					X				X		X	X	
XIMMBI <sup>15</sup>   X   X   X   X   X   X   X   X   X	визуализ															
25-гидрокс ивитами и разование и разовани	ация <sup>14</sup>															
гидрокс ивитами и D	Химия <sup>15</sup>	X	X			X		X				X		X	X	
ИВИТАМИ   Н D	25-															
мвитами н D  Офтальм ологичес кое	гидрокс	v	v					v				v		v	v	
Офтальм ологичес кое X X X X X X X X X X X X X X X X X X X	ивитами	Λ						$\Lambda$				A		Λ	Λ	
ологичес кое	нD															
кое обследов ание 16  Ультраз вуковое исследов X X X X X X X X X X X X X X X X X X X	Офтальм															
обследов ание <sup>16</sup> Ультраз вуковое исследов X X X X X X X X X X X X X X X X X X X	ологичес															
ание 16	кое		X					X						X	X	
Ультраз вуковое исследов X X X X X X X X X X X X X X X X X X X	обследов															
вуковое исследов X X X X X X X X X X X X X X X X X X X	ание <sup>16</sup>															
исследов	Ультраз															
ание почек  РТН X X  HR-  рQСТ <sup>17</sup> Триптаз а при серьезно й IAR <sup>18</sup> Обзор и оценка нежелат ельных явлений  Анализы биомаркеров	вуковое															
ПОЧЕК РТН X X	исследов		X					X						X	X	
РТН         X	ание															
HR- pQCT <sup>17</sup>	почек															
рQСТ <sup>17</sup>	PTH	X	X					X						X	X	
рQСТ <sup>17</sup> Триптаз а при	HR-		v											v	v	
а при серьезно й IAR 18	pQCT <sup>17</sup>		A											Λ	Λ	
серьезно й IAR <sup>18</sup> X X X X X X X X X X X X X X X X X X X	Триптаз															
серьезно       й IAR <sup>18</sup> Обзор и       оценка         нежелат       <<наблюдение непрерывно>>         ельных       явлений         Анализы биомаркеров	а при			v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	
Обзор и оценка нежелат <b>&lt;&lt;наблюдение непрерывно&gt;&gt;</b> ельных явлений <b>Анализы биомаркеров</b>	серьезно				X		X	X	X	X	X		X	X	X	
оценка нежелат <<наблюдение непрерывно>> ельных явлений  Анализы биомаркеров	й IAR <sup>18</sup>															
нежелат <<наблюдение непрерывно>> ельных явлений Анализы биомаркеров	Обзор и		l			l										
ельных явлений <b>Анализы биомаркеров</b>	оценка															
явлений <b>Анализы биомаркеров</b>	нежелат					< <h< td=""><td>аблю</td><td>дени</td><td>е неп</td><td>рерь</td><td>івно&gt;</td><td>·&gt;</td><td></td><td></td><td></td><td></td></h<>	аблю	дени	е неп	рерь	івно>	·>				
Анализы биомаркеров	ельных															
	явлений															
Анализы Х Х Х	Анализы	биома	ркерс	)B												
	Анализы		X					X						X	X	

маркеро										
В										
обновле										
кин										
костной										
ткани										
(остеока										
льцин,										
P1NP,										
sCTX)										
Анализы ]	PK/PD	/ADA	19							
PD (PPi,										
PL и		X		X	X	X	X	X	X	
PLP)										
PK		X		X	X	X	X	X	X	
ADA		X		X	X	X	X	X	X	
Оценки ро	езульт	атов								
BPI		X			X		X	X	X	
SF-36		X			X		X	X	X	
SPPB		X			X		X	X	X	
Результа										
ты теста		X			X		X	X	X	
TUG										
LEFS		X			X		X	X	X	
PGI-I								X	X	
Другие	'									
Осущест										
вление										
телефон										
ных										X
звонков										/ <b>X</b>
В										
течение										
30-										

дневног		
o		
периода		
Обзор		
сопутств		
ующих		
лекарств		
енных		
препарат		
ов/		
нефарма	<<наблюдение непрерывно>>	
кологиче	, ,	
ских		
средств		
терапии		
И		
процеду		
p		
Обзор		
примене		
ния		
вспомог		
ательны	<<наблюдение непрерывно>>	
X		
устройст		
В		
Дневник		
И		
пациент	<<наблюдение непрерывно>>	
ОВ		
	1	

Сокращения: ADA=антитело к лекарственному средству; ALP=щелочная фосфатаза; BPI=краткий опросник для оценки выраженности болевого синдрома; eGFR=расчетная скорость клубочковой фильтрации; EOS=конец исследования; ET=досрочное прекращение; HPP=гипофосфатазия; HR-pQCT=периферическая количественная компьютерная томография высокого разрешения; IAR=реакция, связанная

с инъекцией; LEFS=шкала функций нижних конечностей; NA=не применимо; P1NP=N-концевой пропептид проколлагена I типа; PD=фармакодинамика; PGI-I=общее впечатление пациентов об улучшении; PK=фармакокинетика; PL=пиридоксаль; PLP=пиридоксаль-5'-фосфат; PPi=неорганический пирофосфат; PTH=паратиреоидный гормон; sCTX=сывороточный коллаген 1 типа с С-телопептидной сшивкой; SF-36=краткая форма опросника из 36 пунктов; SPPB=краткая батарея тестов физического функционирования; TUG=временной тест "встань и иди"; ULN=верхний предел нормы.

- 1. Визиты будут проводиться в исследовательском центре, при этом определенные визиты будут проводиться для введения доз пациенту на дому.
- 2. Если пациент прекращает участие в исследовании до недели 36, во время данного визита должны быть проведены все оценки, если это возможно, за исключением введения исследуемого лекарственного средства. Для упрощения планирование графика требуемых оценок исследования при каждом визите исследовательский визит может быть сокращен или продлен, при необходимости, при условии, что соблюдается указанный порядок оценок, касающихся отбора лабораторных образцов (например, PK/PD/ADA, сывороточный анализ на беременность) и оценки показателей жизненно важных функций. Порядок оценок будет указан в Руководстве по проведению процедур в ходе исследования.
- 3. Телефонный звонок в рамках последующего наблюдения состоится через 30 дней после введения последней дозы исследуемого лекарственного средства (неделя 36). Для пациентов, которые прекратили участие в исследовании до недели 36, следует провести телефонный звонок в рамках последующего наблюдения через 30 дней (если только пациент не откажется от своего согласия на участие в исследовании). Женщины-пациенты детородного возраста будут находиться под наблюдением для получения информации о контроле рождаемости и беременности. Любые зарегистрированные случаи беременности у женщин-пациентов или женщин-партнеров мужчин-пациентов будут находиться под наблюдением до тех пор, пока не станет известен исход беременности.
- 4. Анамнез пациента включает общий анамнез пациента и специализированный для HPP анамнез пациента, в том числе подробную информацию о заболевании с началом в детском возрасте. Подробная информация о потери "взрослых" зубов будет оценены как часть анамнеза пациента. Полный анамнез пациента будет собран на исходном уровне, и пациенты будут опрошены для определения, есть ли какое-либо изменение в анамнезе пациента со времени предыдущего визита во время последующих исследовательских визитов в клинику.
- 5. Демографические данные будут собраны в зависимости от региона и могут включать дату рождения, возраст, пол, этническую принадлежность и расу.
- 6. Клинический диагноз HPP с началом в детском возрасте основывается на признаках и симптомах, характерных для HPP, подтвержденных следующим:
- а. Задокументированная(задокументированные) мутация(мутации) в гене *ALPL* от сертифицированной лаборатории;
  - b. Уровень ALP в сыворотке крови ниже скорректированного по возрасту и полу

нормального диапазона,

PLP превышает 2 × ULN при скрининге.

- 7. Если результаты анализа мутаций гена НРР еще не доступны в медицинских картах пациента, его следует провести в течение первых 2 недель скринингового периода.
- 8. Физикальное обследование будет включать оценку общего внешнего вида; кожи; головы, уха, глаза, носа и горла; шеи; лимфоузлов; грудной клетки; сердца; брюшной полости; конечностей; центральной нервной системы; опорно-двигательного аппарата. Во время скрининговых визитов и визитов на исходном уровне будет проведено полное физикальное обследование. В моменты времени, указанные в графике мероприятий (таблица 4), будут проведены сокращенные физикальные обследования (на основе признаков и симптомов пациента). Все физикальные обследования (полные и сокращенные) будут включать взвешивание (с применением калиброванных весов) и осмотр мест инъекций асфотазы альфа на наличие потенциальной(потенциальных) реакции(реакций) в месте инъекции. Физикальные обследования на скрининговых визитах и визитах на исходном уровне также будут включать оценку роста.
- 9. Показатели жизненно важных функций включают кровяное давление, частоту сердечных сокращений, частоту дыхания и температуру (любую из измеренной в височной области, в ротовой полости или в подмышечной области). В дни введения доз в клинике показатели жизненно важных функций следует измерять за 10 минут до инъекции исследуемого лекарственного средства. Убедитесь, пожалуйста, что способ измерения температуры пациента одинаков на протяжении всего исследования.
- 10. В дни введения доз в клинике для подтверждения правильной дозы перед введением дозы необходимо будет измерять вес тела.
- 11. Анализы мочи и сыворотки крови на беременность необходимы только для женщин-пациентов детородного возраста. Анализ сыворотки крови на беременность необходим в моменты времени, указанные в графике мероприятий (таблица 4), и будет проведен во время исследовательских визитов в клинику. Анализ мочи на беременность, проводимый в моменты времени, указанные в графике мероприятий, будет проводиться женщинами-пациентами на дому.
- 12. Исследуемое лекарственное средство будут вводить в клинике в моменты времени, указанные в графике мероприятий (таблица 4). Все остальные введения доз могут проводиться в клинике или на дому по усмотрению исследователя.
- 13. Все образцы крови для лабораторных оценок клинической биохимии должны быть собраны до введения исследуемого лекарственного средства.
- 14. Всем пациентам будет проведено рентгенологическое исследование для оценки перелома(переломов) или псевдоперелома(псевдопереломов) нижних конечностей в ходе скринингового периода. В ходе исследования рентгенологические исследования требуется только для пациентов с задокументированным(задокументированными) переломом(переломами) или псевдопереломом(псевдопереломами) при рандомизации или пациентам с подозрением на новый(новые) перелом(переломы) во время проведения

исследования.

- 15. Перечень параметров, включенных в клиническую биохимию, описан ниже.
- 16. Полное офтальмологическое обследование будет проведено в моменты времени, указанные в графике мероприятий. При обследовании будут оценивать отек диска зрительного нерва и признаки эктопической кальцификации, а также будут включены оценки остроты зрения; прилежащих органов и биомикроскопия с щелевой лампой с обследованием передней камеры, хрусталика, конъюнктивы, роговицы и глазного дна. Офтальмологическое обследование должен проводить не располагающий информацией квалифицированный офтальмолог. Центрам будут предоставлены офтальмологические рабочие листы, необходимые для завершения полного обследования. Офтальмологические обследования могут проводиться квалифицированным оптометристом (например, доктором оптометрии) при условии, что оптометрист работает под наблюдением офтальмолога.
- 17. Всем пациентам будет доступна периферическая количественная компьютерная томография высокого разрешения. Если пациенты желают и могут пройти эту визуализирующую оценку, будет организована их поездка в исследовательские центры, в которых есть возможности для данной диагностической визуализации. Также, если HR-рQCT был проведен пациенту в пределах 3 месяцев после скринингового визита, его можно рассматривать как оценку на исходном уровне.
- 18. Образец сыворотки крови на триптазу будет взят перед введением дозы в день 1. Образцы будут взяты только в том случае, если у пациента в данный момент нет активных аллергических реакций, и будут проанализированы только в том случае, если у пациента возникнет последующая IAR. При острых или тяжелых IAR (например, с признаками и симптомами гиперчувствительности, независимо от времени от введения исследуемого лекарственного средства до начала проявления) необходимо взять дополнительные образцы крови и мочи для оценки реакции, как описано в данном документе. При системных реакциях гиперчувствительности необходимо взять дополнительные образцы крови и мочи для оценки такой реакции.
- 19. За 15-30 минут до введения доз асфотазы альфа необходимо получить образец сыворотки крови для анализа РК/PD/ADA.

Ожидается, что введение асфотазы альфа в соответствии с режимом лечения, описанным в данном документе, принесет значительную пользу взрослым пациентам HPP с началом в детском возрасте с функциональными патологиями вследствие хронического заболевания.

Научное обоснование дизайна исследования

Ниже рассмотрено научное обоснование для каждого аспекта дизайна исследования.

• Данное исследование проводят с участием взрослых пациентов с HPP с началом в детском возрасте с высоким бременем заболевания (подтвержденным с помощью конкретных критериев включения в исследование) в популяции, для которой недостаточно данных о функциональных результатах.

- Доза асфотазы альфа, составляющая 6 мг/кг, является официально рекомендуемой дозой, имеющей установленный профиль эффективности и безопасности.
- Доза асфотазы альфа, составляющая 3,6 мг/кг, схожа с дозой (3,5 мг/кг), оцененной в исследовании диапазона доз, в которое были включены 6 пациентов-подростков и 13 взрослых пациентов с HPP в возрасте от ≥13 до ≤65 лет на момент включения в исследование. В данном исследовании дозу, составляющую 3,6 мг/кг, будут оценивать в большей когорте взрослых пациентов с HPP с началом в детском возрасте с высоким бременем заболевания (определяемым с помощью конкретных критериев включения в исследование).
- Функциональные оценки (например, краткая форма опросника из 36 пунктов [SF-36], обобщение физического компонента [PCS] и тест повторного вставания со стула [компонент краткой батареи тестов физического функционирования (SPPB)]), которые будут применять в данном исследовании, являются валидированными субъективными и объективными результатами измерений, которые оценивали при состояниях/заболеваниях, при которых, согласно публикациям, ухудшается функциональная подвижность и затрагиваются ADL (например, ревматоидный артрит, остеоартрит, хроническая скелетномышечная боль и связанная с X-хромосомой гипофосфатемия).
- Пороговые баллы для ключевых вторичных функциональных конечных точек, которые являются валидированными субъективными и объективными результатами измерений (балл по PCS SF-36<40 и время по результатам теста повторного вставания со стула [компонента SPPB] > 13 секунд), определяли на основе всестороннего обзора кумулятивных данных, зарегистрированных как при состояниях/заболеваниях, которые нарушают функциональную подвижность или ADL, так и в здоровой популяции.

# Введение доз асфотазы альфа

Асфотазу альфа в дозе, составляющей 3,6 мг/кг/qw, будут вводить пациентам в группе 2 в течение 24 недель (с недели 13 по неделю 36) после приема 6,0 мг/кг/qw в течение первых 12 недель. Ожидается, что снижение дозы до 3,6 мг/кг/qw будет поддерживать снижения уровней РРі в плазме крови с недели 13 по неделю 36.

Асфотазу альфа вводили ежедневно в дозе, составляющей 3,5 мг/кг, в исследовании ENB-009-10 (например, 0,5 мг/кг 7 раз в неделю). В данном исследовании дозу асфотазы альфа, составляющую 3,6 мг/кг, выбирали для удобного введения дозы 3 раза в неделю (т. е. 1,2 мг/кг 3 раза в неделю). Следует отметить, что могут быть случаи, когда показано более частое введение доз (т. е. 6 раз в неделю).

# Тип пациента и характеристики заболевания

Клинический диагноз HPP с началом в детском возрасте основывается на признаках и симптомах, характерных для HPP, подтвержденных следующим:

- а. Задокументированная(задокументированные) мутация(мутации) в гене *ALPL* от сертифицированной лаборатории;
- Уровень щелочной фосфатазы (ALP) сыворотки крови ниже скорректированного по возрасту и полу нормального диапазона И пиридоксаль-5'-фосфат (PLP), более чем  $2 \times$

превышающий верхний предел нормы при скрининге

- Индекс массы тела  $< 35 \text{ кг/м}^2$  на исходном уровне
- Функциональная патология, о чем свидетельствует время по результатам теста повторного вставания со стула (компонента SPPB), составляющее > 13 секунд, и балл по PCS SF-36<40 при скрининге. Для исследования будут соответствующими критериям включения в исследование максимум 4 пациента, которые не смогут пройти тест повторного вставания со стула (компонент SPPB)
- Пациенты должны иметь анамнез пациента, который включает по меньшей мере 1 перелом, отличный от перелома позвоночника (или псевдоперелом), перенесенный без признаков серьезной травмы
- Пациенты с текущим(текущими) незажившим(незажившими) переломом(переломами) или псевдопереломом(псевдопереломами) (например, бедренной, большеберцовой, малоберцовой, плюсневых костей) нижней(нижних) конечности(конечностей) должны иметь документы о данных переломах по меньшей мере за 3 месяца до скрининга (с или без хирургического вмешательства).

Вводимое(вводимые) исследуемое(исследуемые) лекарственное(лекарственные) средство(средства)

Асфотазу альфа будут поставлять в виде стерильного водного раствора в 80-мг флаконах (с дозировкой 100 мг/мл) с экстрагируемым объемом, составляющим 0,8 мл. Дополнительная подробная информация представлена в таблице 5.

Таблица 5. Вводимое исследуемое лекарственное средство

	Исследуемый продукт		
Название продукта:	Асфотаза альфа		
Лекарственная форма:	Жидкость		
	Группа 1: 6 мг/кг/qw в течение 36 недель		
Однократная доза:	Группа 2: 6 мг/кг/qw в течение 12 недель, затем 3,6		
	мг/кг/qw в течение 24 недель		
Путь введения:	SC		
Описание физических свойств:	Стерильный водный раствор от прозрачного до слегка опалесцирующего, от бесцветного до бледно-желтого цвета с концентрацией 100 мг/мл асфотазы альфа, 25 мМ фосфата натрия, 150 мМ хлорида натрия, рН 7,4, в стеклянном флаконе для однократного применения		
Производитель: Alexion Pharmaceuticals, Inc.			

Сокращения: SC=подкожный; qw=paз в неделю.

Приготовление и введение исследуемого лекарственного средства

Пациенты, рандомизированные в группу 1 или группу 2, будут начинать с введения доз трижды в неделю. Число флаконов, применяемых для приготовления SC инъекций

асфотазы альфа, будут определять в зависимости от веса пациента (таблица 6 и таблица 8).

Если пациент, который принимает 6 мг/кг/qw, весит ≥90 кг, этот пациент должен перейти на схему введения доз 6 раз в неделю (таблица 7). Если показано более частое введение доз (например, на основании веса или проблем с переносимостью вследствие IAR/ISR по оценке исследователя), пациент должен перейти на схему введения доз 6 раз в неделю (таблица 7 и таблица 9). Также могут быть рассмотрены дополнительные корректировки дозы в связи с недостаточной эффективностью или по связанным с безопасностью причинам. Указанный объем дозы может быть взят из флакона с лекарственным препаратом с помощью стерильного одноразового шприца объемом 1 мл для инъекции. Исследуемое лекарственное средство следует вводить SC с применением асептической методики.

Таблица 6. Введение доз на основе веса для введения асфотазы альфа 6 мг/кг/неделя (2 мг/кг три раза в неделю)

Вес тела (кг)	Доза для	Объем для	Конфигурация флакона
	инъекции (мг)	инъекции (мл)	
40	80	0,80	80 мг/0,8 мл
50	100	1,00	Два (2) флакона по 80 мг/0,8 мл
60	120	1,20a	Два (2) флакона по 80 мг/0,8 мл
70	140	1,40a	Два (2) флакона по 80 мг/0,8 мл
80	160	1,60a	Два (2) флакона по 80 мг/0,8 мл

<sup>а</sup> При получении объема для инъекции, составляющего более 1 мл, разделите объем поровну между 2 шприцами и введите 2 инъекции в 2 отдельных места инъекции на расстоянии друг от друга, составляющем приблизительно 1 дюйм (2,54 см).

Таблица 7. Введение доз на основе веса для введения асфотазы альфа 6 мг/кг/неделю (1 мг/кг шесть раз в неделю)

Вес тела (кг)	Доза для инъекции (мг)	Объем для инъекции (мл)	Конфигурация флакона
40	40	0,40	80 мг/0,8 мл
50	50	0,50	80 мг/0,8 мл
60	60	0,60	80 мг/0,8 мл
70	70	0,70	80 мг/0,8 мл
80	80	0,80	80 мг/0,8 мл
90	90	0,90	Два (2) флакона по 80 мг/0,8 мл
100	100	1,00	Два (2) флакона по 80 мг/0,8 мл
110	110	1,10 <sup>a</sup>	Два (2) флакона по 80 мг/0,8 мл
120	120	1,20 <sup>a</sup>	Два (2) флакона по 80 мг/0,8 мл
130	130	1,30 <sup>a</sup>	Два (2) флакона по 80 мг/0,8 мл

<sup>а</sup> При получении объема для инъекции, составляющего более 1 мл, разделите объем поровну между 2 шприцами и введите 2 инъекции в 2 отдельных места инъекции на расстоянии друг от друга, составляющем приблизительно 1 дюйм (2,54 см).

Таблица 8. Введение доз на основе веса для введения асфотазы альфа 3,6 мг/кг/неделю (1,2 мг/кг три раза в неделю)

Вес тела (кг)	Доза для	Объем для	Конфигурация флакона
	инъекции (мг)	инъекции (мл)	
40	48	0,48	80 мг/0,8 мл
50	60	0,60	80 мг/0,8 мл
60	72	0,72	80 мг/0,8 мл
70	84	0,84	Два (2) флакона по 80 мг/0,8 мл
80	96	0,96	Два (2) флакона по 80 мг/0,8 мл
90	108	1,08 <sup>a</sup>	Два (2) флакона по 80 мг/0,8 мл
100	120	1,20ª	Два (2) флакона по 80 мг/0,8 мл
110	132	1,32ª	Два (2) флакона по 80 мг/0,8 мл
120	144	1,44ª	Два (2) флакона по 80 мг/0,8 мл
130	156	1,56ª	Два (2) флакона по 80 мг/0,8 мл

<sup>&</sup>lt;sup>а</sup> При получении объема для инъекции, составляющего более 1 мл, разделите объем поровну между 2 шприцами и введите 2 инъекции в 2 отдельных места инъекции на расстоянии друг от друга, составляющем приблизительно 1 дюйм (2,54 см).

Таблица 9. Введение доз на основе веса для введения асфотазы альфа 3,6 мг/кг/неделю (0,6 мг/кг шесть раз в неделю)

Вес тела (кг)	Доза для инъекции (мг)	Объем для инъекции (мл)	Конфигурация флакона
40	24	0,24	80 мг/0,8 мл
50	30	0,30	80 мг/0,8 мл
60	36	0,36	80 мг/0,8 мл
70	42	0,42	80 мг/0,8 мл
80	48	0,48	80 мг/0,8 мл
90	54	0,54	80 мг/0,8 мл
100	60	0,60	80 мг/0,8 мл
110	66	0,66	80 мг/0,8 мл
120	72	0,72	80 мг/0,8 мл
130	78	0,78	80 мг/0,8 мл

Модификация дозы

После первых 12 недель лечения пациенты из группы 2 перейдут на режим с

дозировкой, составляющей 3,6 мг/кг/qw. Модификации дозы могут быть разрешены, если у пациента наблюдается ухудшение связанных с HPP признаков и симптомов по сравнению с исходным уровнем до лечения после снижения дозы до 3,6 мг/кг/qw, допускается увеличение дозы до 6 мг/кг/qw.

# Оценки эффективности

# Неорганический пирофосфат в плазме крови

Гипофосфатазия В зависимости OT возраста пациентов характеризуется взаимозависимыми проявлениями, причине клиническими возникающими неспособности минерализовать костный матрикс вследствие повышенных концентраций субстрата TNALP, представляющего собой РРі. Повышения внеклеточного РРі подавляет минерализацию костной ткани путем блокировки образования кристаллов гидроксиапатита, что вызывает выраженное накопление неминерализованного костного матрикса, приводя в результате к остеомаляции (размягчению костной ткани) у пациентов всех возрастов, скелетным деформациям при рахите (патологически минерализованной костной ткани, дисморфическими трубчатыми костями и ребрами) и последующим патологиям роста у младенцев и детей. Ожидается, что введение асфотазы альфа будет гидролизировать РРі, высвобождая Рі для соединения с кальцием, тем самым способствуя росту кристаллов гидроксиапатита и минерализации костной ткани, а также восстанавливая нормальный фенотип скелета.

Образцы крови для измерения уровня PPi в плазме крови можно отбирать в различные моменты времени, такие как указанные в таблице 4, для оценки потенциальных субстратов для активности асфотазы альфа.

#### Краткая батарея тестов физического функционирования

SPPB была разработана для измерения функционального статуса и физических показателей. Она представляет собой комплексное измерение, которое оценивает скорость ходьбы, равновесие в положении стоя и выполнение теста "сядь и встань" (STS). SPPB рассчитывают на основе 3 компонентов: способности стоять в течение периода до 10 секунд с 3-мя положениями ног (стопы параллельно друг с другом, стопы перпендикулярно и стопы последовательно); времени для выполнения 3-х или 4-х метровой ходьбы и времени подъема со стула 5 раз (например, тест повторного вставания со стула). Тесты на равновесие в положении стоя оценивают в баллах на основании способности сохранять равновесие в каждой из этих позиций. Скорость ходьбы и тесты STS оценивают в баллах, во-первых, по способности выполнять задания, а во-вторых, по времени, затраченному на выполнение каждого задания. Каждое задание оценивают по 4 баллам, при этом баллы за 3 теста суммируют, что дает в общей сложности максимум 12 и минимум 0. Более высокий балл указывает на более высокий уровень функции, тогда как более низкий балл указывает на более низкий уровень функции. Было показано, что более низкие баллы по SPPB являются прогнозом увеличенного риска падений, утраты независимости от ADL, уменьшения нетрудоспособности, ухудшения состояния здоровья, госпитализации и увеличения продолжительности пребывания в больнице, госпитализации

в дома престарелых и смерти. Изменение по SPPB на 0,5 пункта считается небольшим значимым изменением, в то время как изменение по SPPB на 1 пункт считается существенным значимым изменением (Treacy et al., *J Physiother*. 64(1):61, 2018).

Тест повторного вставания со стула предусматривает активацию множества мышц нижней конечности, главным образом мышц-разгибателей колена (четырехглавой мышцы бедра) (Bohannon et al. *Isokinet Exerc Sci.* 18(4):235-240, 2010). Тест повторного вставания со стула применяли в качестве самостоятельной оценки (например, упражнение STS), которая широко применяется в качестве измерения силы нижних конечностей. Существует несколько вариантов теста STS; тем не менее, в данном исследовании будет применяться компонент SPPB, представляющий собой тест повторного вставания со стула.

SPPB может быть проведен в различные моменты времени, такие как указанные в таблице 4, не располагающим информацией оценивающим специалистом.

# Краткая форма опросника из 36 пунктов

Связанное со здоровьем качество жизни относится к функционированию и благополучию в физической, психической и социальной сферах жизни. SF-36 состоит из 8 многопунктовых шкал (35 пунктов), оценивающих физическую функцию (10 пунктов), ролевые ограничения вследствие физических проблем со здоровьем (4 пункта), телесную боль (2 пункта), общее состояние здоровья (5 пунктов), жизненную активность (4 пункта), социальное функционирование (2 пункта), ролевые ограничения в связи с эмоциональными проблемами (3 пункта) и эмоциональное благополучие (5 пунктов). Данные 8 шкал могут быть объединены в 2 обобщенных показателя: балл PCS и балл обобщения психического компонента (MCS). 36-й пункт, касающийся изменения состояния здоровья, не включен в шкалу или обобщенные баллы (Farivar et al. *Health Qual Life Outcomes* 5:54, 2007).

SF-36 представляет собой опросник для самостоятельного заполнения. Пациенты заполняют 1 ответ из ряда вариантов для каждого из 36 вопросов. Затем комбинацию ответов на пункты обобщают для расчета балла по каждой из 8 перечисленных шкал. Баллы по каждому параметру варьируют в диапазоне от 0 до 100, причем более высокие баллы указывают на лучшее состояние здоровья. Боль в теле также оценивают в баллах таким же образом, причем более высокие баллы указывают на меньшую боль. 2 обобщенных показателя (PCS и MCS) оценивают в баллах иначе, чем по 8 параметрам в баллах. Данные шкалы оценивают в баллах с применением основанных на нормах способов. Балл, составляющий 50, отражает средний балл по отношению к этим популяциям. Баллы ниже 50 отражают состояние здоровья ниже среднего, а баллы выше 50 отражают состояние здоровье выше среднего (Stewart et al. *Aust J Physiother*. 53:208, 2007). Опросник SF-36 может быть заполнен в различные моменты времени, такие как указанные в таблице 4.

# Временной тест "встань и иди"

Временной тест "встань и иди" (TUG) измеряет в секундах время, затрачиваемое индивидуумом на то, чтобы встать со стандартного кресла, пройти расстояние, составляющее 3 метра (примерно 10 футов), повернуться, вернуться к креслу и сесть. Для данного клинического теста, разработанного для проведения в медицинском учреждении,

необходимо, чтобы пациенты носили свою обычную обувь и применяли свои привычные вспомогательные средства для ходьбы (без средств, трость, ходунки). Никакой физической помощи не оказывается. Пациенты начинают тест, прислонившись спиной к креслу, положив руки на подлокотники и взяв в руки их вспомогательное средство для ходьбы. Их инструктируют, что при слове "идите" они должны встать и пройти в удобном и безопасном темпе до линии на полу на расстоянии 3 м, повернуться, вернуться к креслу и снова сесть. Перед тем, как замерить время, пациент один раз проходит тест с целью ознакомления с тестом. Для измерения времени теста можно применять либо секундомер, либо наручные часы с секундной стрелкой. Нормальные здоровые пожилые лица обычно выполняют задание за 10 секунд или меньше. Очень слабым или ослабленным пожилым лицам с плохой подвижностью может потребоваться 2 минуты или больше. Было показано, что балл, составляющий ≥ 14 секунд, указывает на высокий риск падений (Lysack C. et al. Household and Neighborhood Safety, Mobility. 2nd ed. St. Elsevier; 2010). Тест TUG будет проведен не располагающим информацией оценивающим специалистом в различные моменты времени, такие как указанные в таблице 4.

# Балл по краткому опроснику для оценки выраженности болевого синдрома вопрос 3 (наиболее сильная боль)

Краткий опросник для оценки выраженности болевого синдрома (BPI), ранее известный как краткий опросник по болевому синдрому, представляет собой опросник для самостоятельного заполнения, который изначально был разработан для оценки боли при раке. В настоящее время его также применяют в качестве общего опросника по болевому синдрому при других хронических болевых состояниях. Он доступен в короткой - (9 пунктов) и длинной - (17 пунктов) форме. Короткую форму ВРІ применяют чаще, и именно на нее ссылаются, когда ВРІ упоминается в исследовании.

Первый необязательный пункт представляет собой контрольный вопрос о боли опрашиваемого лица в течение дня. Далее опросник состоит из графических диаграмм боли: 4 пункта об интенсивности боли (наиболее сильная боль, наименьшая боль, средняя боль, боль в настоящий момент), 2 пункта об обезболивающем лечении или лекарственном препарате и 1 пункт о влиянии боли с 7 подпунктами (общая активность, настроение, способность ходить, нормальная ходьба, отношения с другими людьми, сон, наслаждение жизнью).

ВРІ дает 2 основных балла: балл тяжести боли и балл влияния боли. Балл тяжести боли рассчитывают по 4 пунктам, касающимся интенсивности боли. Каждый пункт оценивают от 0, т. е. отсутствие боли, до 10, т. е. боль настолько сильна, насколько вы можете себе представить; и пункт вносит тот же вклад в итоговый балл, находящийся в диапазоне от 0 до 40. Балл влияния боли соответствует пункту о влиянии боли. 7 подпунктов оценивают от 0, т. е. не оказывает влияния, до 10, т. е. оказывает максимальное влияние; и пункт вносит тот же вклад в итоговый балл, находящийся в диапазоне от 0 до 70. Первый пункт, графические диаграммы боли (болезненные и наиболее болезненные области), а также пункты об обезболивающем лечении или лекарственном препарате

(перечень средств лечения и степень облегчения) не учитывают при подсчете баллов. Заполнение ВРІ занимает примерно 5 минут (Poquet et al. *J Physiother*. 62:52, 2016). ВРІ может быть заполнен в различные моменты времени, такие как указанные в таблице 4.

#### Балл по шкале функций нижних конечностей

Шкала функций нижних конечностей (LEFS) представляет собой регистрируемый пациентами показатель для изучения функционального статуса при наличии проблем нижних конечностей, связанных с опорно-двигательным аппаратом. LEFS состоит из 20 пунктов с баллами, находящимися в диапазоне от 0 (чрезвычайно трудно/невозможно осуществить активность) до 4 (нет затруднений). Общий балл можно получить, суммировав баллы по отдельным пунктам. Максимальный балл, составляющий 80, указывает на отсутствие функциональных ограничений, а минимальный балл, составляющий 0, указывает на крайние ограничения (Mehta et al. *J orthopaed. and sports phys. ther.* 46:200-216, 2016). LEFS может быть заполнен в различные моменты времени, такие как указанные в таблице 4.

# Рентгенологическая оценка регенерации переломов

В данном исследовании будут оценивать долю регенерировавших переломов или У пациентов c замедленной регенерацией псевдопереломов переломов псевдопереломов нижней(нижних) конечности(конечностей) посредством рентгенографической Рентгенологическую регенерацию оценки. костной ткани определяют как результат наблюдения признаков кортикальной веретенообразной костной мозоли и/или почти полной облитерации линии перелома. В шкале рентгенологического большеберцовой кости (RUST) применяют сращения переломов рентгенографические признаки для оценки регенерации. RUST и модифицированная RUST (mRUST) основаны на баллах, присвоенных формированию костной мозоли и видимости линии перелома в каждой из 4 видимых кортикальных областей на 2 рентгенограммах. Балл по mRUST, составляющий "1", присваивают при оценке "нет мозоли"; балл, составляющий "2", присваивают при "наличии мозоли"; балл, составляющий "3", присваивают при наличии "веретенообразной костной мозоли", и балл, составляющий "4", присваивают, когда костная ткань "ремоделирована" и "перелом не виден" (Leow et al. Bone Joint Res. 5:116-121, 2016; Litrenta et al. *J Orthop Trauma* 29:516-520, 2015; Whelan et al. *J Trauma*. 68:629-632, 2010). Балл по mRUST, составляющий 3, будут рассматривать как свидетельство регенерации в данном исследовании.

Рентгенограммы будут оцениваться не располагающей информацией комиссией экспертов (например, рентгенологов, хирургов-ортопедов). Рентгенографическую визуализацию можно осуществлять в различные моменты времени, такие как моменты времени, указанные в таблице 4.

# Применение вспомогательных устройств

Гипофосфатазия связана с высоким бременем от переломов и ортопедических/стоматологических хирургических вмешательств, болью, нарушением подвижности, потребностью в вспомогательных устройствах для ходьбы, уменьшением

функционального статуса и патологиями в ADL у детей и взрослых (Berkseth et al. *Bone*. 54:21-27, 2013; Coe et al. *J. Bone Joint Surg. Surg.* American volume.68:981-990, 1986; Weber et al. *Metabolism: clinical and experimental*. 65:1522-1530, 2016). В данном исследовании будут оценивать причины применения вспомогательных устройств, в том числе боль, слабость, утомляемость, равновесие, боязнь падения или боязнь перелома. Также можно собрать информацию о типах применяемых устройств (например, костыли, зависимость от кресла-коляски [все время], зависимость от кресла-коляски [часть времени], ходунки, трость, фиксирующих устройств для ног, пандусы, модификация ванны/душа, поручни/перила или другие вспомогательные устройства). Применение вспомогательных устройств можно постоянно контролировать на протяжении всего исследования.

# Периферическая количественная компьютерная томография высокого разрешения

Периферическая количественная компьютерная томография высокого разрешения (HR-pQCT) представляет собой неинвазивный малолучевой способ оценки микроархитектуры костной ткани и объемной минеральной плотности кости (ВМD) в кортикальных и трабекулярных отделах дистального отдела лучевой кости и дистального отдела большеберцовой кости. Его применение в клиническом исследовании помогло понять различия в структуре костной ткани в широком диапазоне нарушений метаболизма костной ткани, риска переломов и ответа костной ткани на различные способы терапии остеопороза (Cheung et al. Current oseteopor. reports. 11:136-146, 2013). Анализ микроархитектуры с применением данной методологии обеспечивает лучшее понимание возможного повреждения трабекулярной и кортикальной части кости в связи со связанными заболеванием компонентами. Всем пациентам будет периферическая количественная компьютерная томография высокого разрешения. НRрQCT можно проводить для оценки общей, объемной BMD трабекулярного и кортикального вещества, толщины кортикального вещества, жесткости, числа трабекул, разделения трабекул и толщины трабекул, например, в моменты времени, указанные в таблице 4.

# Общие впечатления пациента об улучшении

Общее впечатление пациента об улучшении (PGI-I) представляет собой опросник из 1 пункта, который применяют для оценки общего восприятия пациентом своего состояния относительно исходного уровня. Пациента просят оценить предполагаемое изменение его/ее состояния в ответ на терапию или вмешательство (Yalcin et al. *Am J Obstet Gynecol*. 189:98-101, 2003). Оценка по PGI-I может быть проведена в различные моменты времени, такие как моменты времени, указанные в таблице 4.

Оценки безопасности

# Анамнез пациента и демографическая информация

Демографическая информация будет включать дату рождения, возраст, пол, этническую принадлежность и расу. Анамнез пациента будет включать возраст на момент появления наиболее ранних признаков или симптомов HPP, а также конкретные признаки

или симптомы при постановке диагноза и при включении в исследование, в том числе скелетные, неврологические, конституциональные/метаболические, мышечные, стоматологические, респираторные, почечные и ревматические заболевания. Анамнез пациента и демографическую информацию можно получить в различные моменты времени, такие как моменты времени, указанные в таблице 4.

#### Физикальное обследование

Физикальное обследование будет включать оценку общего внешнего вида; кожи; головы, уха, глаза, носа и горла; шеи; лимфоузлов; грудной клетки; сердца; брюшной полости; конечностей; центральной нервной системы; опорно-двигательного аппарата. Сокращенное физикальное обследование будет включать оценку признаков и симптомов пациента. Все физикальные обследования (полные и сокращенные) будут включать взвешивание (с применением калиброванных весов) и осмотр мест инъекций асфотазы альфа на наличие потенциальной(потенциальных) реакции(реакций). Целые и сокращенные физикальные обследования можно осуществлять в различные моменты времени, такие как моменты времени, указанные в таблице 4.

# Показатели жизненно важных функций

Показатели жизненно важных функций включают систолическое и диастолическое кровяное давление (миллиметры ртутного столба [мм рт. ст.]), частоту сердечных сокращений (ударов/минуту), частоту дыхания (вдохов/минуту) и температуру (градусы Цельсия [°С] или градусы Фаренгейта [°F]). В дни введения доз в клинике показатели жизненно важных функций можно измерять за 10 минут до введения исследуемого лекарственного средства. Показатели жизненно важных функций можно измерять в различные моменты времени, такие как моменты времени, указанные в таблице 4.

#### Фармакодинамика

За 15-30 минут до введения дозы асфотазы альфа можно взять образцы для измерения PPi и PLP в плазме крови с целью оценки потенциальных субстратов для активности асфотазы альфа. Пиридоксаль (PL) можно измерить независимо и можно зарегистрировать в виде соотношения PLP/PL. Пиридоксаль-5'-фосфат представляет собой субстрат для асфотазы альфа, и в результате за счет дефосфорилиризующей активности образуется PL. Таким образом, ожидается, что соотношение PLP/PL будет выше до лечения и ниже при лечении асфотазой альфа, поскольку PLP дефосфорилируется до PL (Akiyama et al. *Mol Genet Metab*. 125:174-180, 2018). Изменения PL отражают активность асфотазы альфа при анализе в качестве соотношения с PLP. Будут регистрировать фактическую дату и время (в 24-часовом формате) отбора каждого образца.

Образцы крови для измерения PPi, PLP и PL в плазме крови можно отбирать в различные моменты времени, такие как моменты времени, указанные в таблице 4.

# Биомаркеры

Гипофосфатазия характеризуется взаимозависимыми клиническими проявлениями, возникающими по причине неспособности минерализовать костный матрикс вследствие повышенных концентраций субстратов TNALP, в том числе PPi и PLP. Неспособность

минерализовать костный матрикс приводит к остеомаляции (размягчению костей). Маркеры обновления костной ткани, такие как остеокальцин, N-концевой пропептид проколлагена I типа (P1NP) и сывороточный коллаген 1 типа с С-телопептидной сшивкой (sCTX), представляют собой набор белковых биомаркеров или биомаркеров в форме белковых производных, высвобождаемых во время ремоделирования костной ткани вследствие активности остеобластов или остеокластов. Маркеры обновления костной ткани быстро отвечают на изменения в физиологии костной ткани; поэтому они полезны при определении ответа пациента на виды терапии метаболических нарушений костной ткани и их соблюдения (Greenblatt et al. *Clin Chem.* 63:464-474, 2017).

Образцы крови для анализа маркеров обновления костной ткани (остеокальцин, P1NP и sCTX) можно отбирать в различные моменты времени, такие как моменты времени, указанные в таблице 4.

Анализы эффективности

#### Первичный анализ

Первичной конечной точкой данного исследования является изменение значений концентрации PPi в плазме крови в группе 1 от исходного уровня до недели 36 Первичный анализ для первичной конечной точки можно выполнить с применением модели MMRM, подходящей для групп лечения и визитов, для оценки изменения в каждый момент времени после исходного уровня. Первичная гипотеза позволяет проверить изменение в пределах группы по сравнению с исходным уровнем на неделе 36.

Вторичные анализы

#### Ключевые вторичные цели

Изменение концентрации PPi в плазме крови от исходного уровня до недели 36 в группе 2, и изменение результата теста повторного вставания со стула (компонент SPPB) от исходного уровня до недели 36, и балл по PCS SF-36 в группах 1 и 2 можно проанализировать таким же образом, как и для PPi (первичный анализ).

Анализ подгруппы можно выполнить для пациентов с наличием любого типа переломов на момент рандомизации (перелом или псевдоперелом) (да или нет).

Ключевые вторичные конечные точки можно упорядочить и последовательно протестировать для контроля общей частоты ошибок типа 1 в следующем порядке: (1) РРі для группы 2, (2) PCS SF-36 для группы 1, (3) PCS SF-36 для группы 2, (4) тест повторного вставания со стула (компонент SPPB) для группы 1 и (5) тест повторного вставания со стула (компонент SPPB) для группы 2.

### Другие вторичные точки

Анализ следующих конечных точек можно выполнить в группах 1 и 2 таким же образом, как и для изменения концентрации PPi в плазме крови от исходного уровня до недели 36 (ключевая вторичная конечная точка):

- Изменение результатов теста повторного вставания со стула (компонент SPPB) от исходного уровня до недели 24
  - Изменение балла по PCS SF-36 от исходного уровня до недели 24

Статистический анализ, аналогичный тому, который выполняют в случае первичной конечной точки, будет выполнен для следующих конечных точек:

- Изменение в тесте TUG от исходного уровня до недели 36
- Изменение в ВРІ от исходного уровня до недели 36
- Изменение в баллах по LEFS от исходного уровня до недели 36

#### Исследовательские анализы

В отношении изменения от исходного уровня до недели 12, 24 и 36 для исследовательских конечных точек анализ можно выполнить таким же образом, как и в отношении изменения от исходного уровня до недели 36 для РРі.

Долю регенерировавших переломов или псевдопереломов на неделе 36 можно суммировать с применением подсчета и процента. Время до сращения или регенерации перелома можно проанализировать с применением метода Каплана-Мейера.

Для оценки прочности можно получить изменение уровня PPi от недели 12 до недели 36. Можно определить соотношение PLP к PL.

В РК профиле асфотазы альфа можно указать отдельные данные зависимости активности асфотазы альфа в сыворотке крови от времени и фактические моменты времени взятия образцов крови с нанесением на графики наблюдаемой зависимости активности от времени и ее изменения. Сводная информация об активности альфа асфотазы в сыворотке крови может быть представлена с помощью описательной статистики с построением профилей зависимости средней активности от времени и сравнением между 2 группами лечения.

# Пример 3. Физическая функция и HRQoL у взрослых, подвергавшихся лечению асфотазой альфа по поводу HPP с началом в детском возрасте

Данные о взрослых (≥18 лет) с HPP с началом в детском возрасте, которые получали асфотазу альфа в течение по меньшей мере 12 месяцев, собирали в ходе обычной клинической практики в Институте ортопедии Университета Юлиуса-Максимилиана в Вюрцбурге (NCT03418389). Физическую функцию оценивали с применением краткой батареи тестов физического функционирования (SPPB), шкалы функций нижних конечностей (LEFS) и теста 6-минутной ходьбы (6МWT); боль оценивали с применением инструмента PainQuest. Для оценки HRQoL применяли краткую форму опросника состояния здоровья из 36 пунктов версии 2 (SF-36v2). Анализировали изменение баллов по каждому инструменту от исходного уровня до 12 месяцев. Также во время данного периода фиксировали проблемы безопасности.

У 14 включенных пациентов (11 женщин, 3 мужчин) медианный (минимум, максимум) возраст на момент начала лечения асфотазой альфа составлял 53 (20, 78) года для женщин и 46 (19, 57) лет для мужчин. Медианный (минимум, максимум) рост составлял 160 (135, 167) см у женщин и 176 (170, 180) см у мужчин. Все пациенты имели гетерозиготные мутации в гене *ALPL*. У 12 пациентов с данными по 6МWТ медианное (минимум, максимум) пройденное расстояние значимо увеличилось с 272 (0, 760) м до 301 (0, 605) м после 12 месяцев лечения (фиг. 2A). Медианные (минимум, максимум) баллы

теста подъема со стула, являющегося частью SPPB, значимо улучшились с 22 секунд на исходном уровне до 13 секунд после 12 месяцев лечения (n=9; фиг. 2B). Значимые улучшения в баллах по LEFS и обобщению физического компонента по SF-36v2 наблюдали после 12 месяцев лечения (n=9; фиг. 2C и 2D). Изменения силы хвата (n=12) или боли (n=8) были вариабельными на протяжении 12 месяцев лечения. Профиль безопасности асфотазы альфа в данной популяции был схож с профилем, зарегистрированным в предыдущих клинических исследованиях. Несмотря на то, что было оценено лишь небольшое число пациентов, данная реальная когорта лечения взрослых свидетельствовала об улучшении физического функционирования и HRWoL в результате лечения асфотазой альфа на протяжении шести или 12 месяцев.

# Пример 4. Нательное устройство для отслеживания лечения

Клиническое испытание фазы 4 можно проводить в сочетании с нательным устройством, выполненным с возможностью ношения на запястье каждого субъекта, подвергавшегося лечению. Нательное устройство предусматривает акселерометр и может применяться для отслеживания шагов и физической активности субъекта. Нательное устройство можно применять для контроля биометрических показаний в ходе режима лечения и можно применять для контроля эффективности лечения и помощи в определении того, следует ли прекратить введение sALP после достижения эффективности или возобновить его, если эффективность не сохраняется, основываясь на изменении биометрических показаний.

Нательное устройство может быть выполнено в виде системы, которая дополнительно включает периферийное электронное устройство, такое как смартфон, или облачную базу данных. Поскольку данные постоянно контролируются и измеряются нательным устройством, данные, собранные устройством, могут быть переданы на периферийное устройство и сохранены на периферийном устройстве или в облачной среде для хранения данных. Периферийное устройство может быть выполнено с возможностью запуска программного приложения (например, приложения для смартфона), которое предоставляет субъекту навигационную информацию с целью отслеживания изменений физиологических показаний субъекта в ходе курса лечения (например, улучшение с течением времени). Данные также могут быть переданы третьему лицу, например лечащему врачу, вводящему средство терапии на основе sALP, с целью контроля прогресса лечения субъекта.

#### Конечные точки исследования

Иллюстративные конечные точки и их обоснование перечислены в представленной ниже таблице.

### Таблица 10. Конечные точки в отношении нательного устройства

Предложенная конечная точка	Обоснование					
Изменение относительно исходного среднего значения количеств среднесуточной активности	• Provide an objective measure of overall physical activity an ambulation over time					
Соотношение количеств среднесуточной активности, зафиксированных в течение наиболее активных 30 минут дня субъекта между определенными интервалами и исходным уровнем	• Provide an objective estimate of an individual's <i>maximal</i> physical exertion potential over time					
Изменение относительно исходного уровня среднесуточного времени, затрачиваемого на различные уровни активности (малоподвижный, легкий, умеренный и энергичный) в течение периода без сна	• Provide an objective estimate of the distribution of an individual's activity across various intensity states over time					
Изменение относительно исходного уровня среднесуточного соотношения активности к малоподвижному состоянию	• Provide an objective measure of an individual's overall physical activity and ambulation over time					
Изменение среднесуточной продолжительности периодов активности по сравнению с исходным уровнем при различных порогах интенсивности активности	• Provide an objective estimate of the distribution of an individual's activity across various intensity states over time					
Изменение относительно исходного уровня среднесуточной продолжительности общего времени сна	• Provide an objective measure of changes in an individual's sleep duration over time					
Изменение относительно исходного уровня средней активности (количеств в минуту) во время сна	• Provide an objective measure of sleep quality and sleep disturbances over time					

# Связь между предлагаемыми конечными точками и представляющими интерес клиническими результатами

В случае пациентов с HPP, особенно пожилых и подвижных пациентов, особенно взрослых пациентов, цели лечения включают улучшение функционального статуса (изменение выносливости, силы и улучшения походки), снижение утомляемости и

снижение боли в суставах. Цифровые конечные точки предназначены для измерения совокупных уровней активности, которые, как предполагается, будут меняться с течением времени в ответ на улучшения изложенных целей лечения. В различных исследований была продемонстрирована связь между показателями, полученными с помощью акселерометра, и болевыми симптомами в определенных популяциях. Аналогично, было показано, что показатели акселерометра коррелируют с функциональными показателями, такими как тест шестиминутной ходьбы (6МWT).

## Вариант устройства - часы Actigraph Insight Watch

Акселерометрические мониторы являются коммерчески доступными. Часы Actigraph Insight Watch представляют собой носимое на запястье, допущенное к продаже устройство медицинского назначения 510(k) класса II, содержащее трехосевой акселерометр. Аккумулятор и память на данном устройстве позволяют осуществлять непрерывный сбор и хранение данных на устройстве в течение 30 дней с частотой дискретизации по умолчанию 32 Гц. Передача данных между устройством и облачным сервисом осуществляется через Centrepoint Data Hub, который безопасно передает данные через Bluetooth или USB с устройства в облачный сервис Centrepoint Cloud. Данные, хранящиеся в облачном сервисе Centrepoint, могут быть загружены специалистами, проводящими исследование, напрямую через веб-портал Centrepoint или получены через веб-АРІ (прикладной программный интерфейс) с соответствующими учетными данными безопасности. Набор конечных точек от акселерометра рассчитывают с помощью Actigraph с применением опубликованных и общедоступных алгоритмов, в том числе расход энергии, показатели МЕТ, физическую активность, периоды активности, периоды малоподвижного состояния, задержку сна, общее время сна, пробуждение после начала сна и эффективность сна. Более того, необработанные данные 3-осевого акселерометра доступны через веб-АРІ, что позволяет разрабатывать альтернативные конечные точки и статистические показатели, не рассчитываемые с помощью Actigraph. Часы Actigraph Insight имеют стандартную фурнитуру наручных часов, что позволяет участникам или специалистам, проводящим исследование, заменять предоставленный браслет в зависимости от предпочтений в стиле или материале. Устройство должно скрывать от участников исследования любые записанные данные и отображать только время суток, дату и оставшийся заряд батареи устройства во избежание искажения поведения носителя устройства. Кроме того, применение такого устройства может охватывать периодический сбор данных для более эффективного отслеживания длительных сроков роста костей на протяжении недель и месяцев.

Преимущества часов Actigraph Insight Watch включают:

- Insight Watch представляет собой устройство, которое предоставляет участникам возможность использования коммерческого нательного устройства;
- срок службы батареи и памяти на устройстве достаточны для ожидаемого времени сбора данных, что минимизирует бремя для участников, связанное с передачей данных в ходе исследования;

- необработанные данные устройства доступны через АРІ;
- процедуры, связанные с потоком данным, хорошо зарекомендовали себя, безопасны и предлагают несколько способов экспорта;
  - устройства Actigraph можно использовать для сбора данных.

# Пример 5. Лечение взрослого пациента с НРР с болью в нижних конечностях

У взрослого субъекта мужского пола имеет место повышенная концентрация неорганического пирофосфата (PPi), составляющая приблизительно 5,82 мкМ, и средняя оценка силы в ВОТ-2, составляющая менее 10. Субъекту 24 года, и он испытывает боль в нижних конечностях и нарушение походки. Субъекту может быть поставлен диагноз НРР, и он может быть выбран для лечения. Субъект может быть подвергнут рентгенологическому исследованию и тесту на минеральную плотность кости, оба из которых могли продемонстрировать уменьшенную минерализацию костной ткани в ногах.

Фармацевтический состав, содержащий полипептид под SEQ ID NO: 1, может быть составлен с концентрацией 0,1 мг/мл. Состав можно вводить подкожно субъекту раз в неделю в течение 8 недель в дозировке, составляющей 3,5 мг/кг/неделя. Субъекта можно оценивать в отношении эффективности лечения спустя 8 недель режима лечения. Субъект может заметить уменьшение боли в костях и нормализацию походки. Субъекта можно подвергнуть последующим рентгенологическим исследованиям и тестам на минеральную плотность кости, которые могут продемонстрировать нормализацию минерализации костной ткани относительно ситуации до лечения. Концентрация PPi у субъекта могла уменьшаться до ниже 5 мкМ, а его балл по силе по ВОТ-2 мог улучшаться до 12, что свидетельствовало о лечебном эффекте, полученном с использованием полипептида. Затем субъект прекращает лечение.

Через шесть месяцев после прекращения лечения субъект начинает испытывать боль в нижних конечностях и нарушение походки. Концентрация PPi повышается до приблизительно 5,82 мкМ, и имеет место средний балл силы в ВОТ-2 менее 10. Затем субъект входит в фазу режима лечения, в которой повторно начинают введение sALP. После одного месяца второй фазы лечения исчезает боль в нижних конечностях и нарушение походки.

# Пример 6. Лечение подростка женского пола с потерей зубов и хронической болью

У субъекта-подростка женского пола имеет место повышенная концентрация неорганического пирофосфата (PPi), составляющая приблизительно 4,78 мкМ, и среднее значение 6МWT, составляющее менее чем приблизительно 70% от прогнозируемого значения 6МWT. Субъекту 14 лет, и она страдает от потери зубов и хронической боли. Субъекту может быть поставлен диагноз HPP, и он может быть выбрана для лечения. Субъекта можно подвергнуть рентгенологическому исследованию и тесту на минеральную плотность кости, оба из которых могут продемонстрировать минерализацию костной ткани в ее зубах и бедренных костях.

Субъекта оснащают нательным устройством, выполненным с возможностью

ношения на запястье. Нательное устройство отслеживает ее физическую активность в течение периода времени, составляющего две недели. В среднем она проходит 3000 шагов в день и два периода в день продолжительностью по меньшей мере 5 минут, при этом ее частота сердечных сокращений повышается по меньшей мере на 10%. Затем она начинает лечение асфотазой альфа с высокой или низкой дозой.

Фармацевтический состав, содержащий полипептид под SEQ ID NO: 1, может быть составлен с концентрацией 0,5 мг/мл. Состав можно вводить подкожно субъекту раз в неделю в течение 4 недель в дозировке, составляющей 2,5 мг/кг/неделя. Субъекта можно оценивать в отношении эффективности лечения спустя 4 недели режима лечения. Субъект может заметить уменьшение хронической боли. Субъекта можно подвергнуть последующим рентгенологическим исследованиям и тестам на минеральную плотность кости, которые могут продемонстрировать нормализацию минерализации ее бедренных костей относительно ситуации до лечения. Концентрация РРі у субъекта может уменьшиться до менее чем 4 мкМ, и ее оценка 6MWT улучшается до приблизительно 85% от прогнозируемого значения, что свидетельствует о лечебном эффекте, полученном с использованием полипептида. Нательное устройство, которое носят в течение двух недель (недели 3 и 4 режима лечения), показывает, что ее шаги в день могут увеличиваться до приблизительно 8000 шагов в день и 8 периодов в день продолжительностью по меньшей мере 5 минут, при этом ее частота сердечных сокращений повышается по меньшей мере на 10%. Субъект может носить нательное устройство в течение одного или более двухнедельных периодов с последующей оценкой. Можно определить, что она может прекратить введение sALP, и периодически наблюдать ее на предмет любых признаков рецидива симптомов.

# Пример 7. Обновление костной ткани и обмен минеральных веществ у взрослых пациентов с HPP с началом в детском возрасте, подвергавшихся лечению асфотазой альфа

Авторы изобретения оценивали изменения маркеров обновления костной ткани у взрослых с HPP с началом в детском возрасте, подвергавшихся лечению асфотазой альфа. Авторы изобретения провели обсервационное исследование пациентов возрастом  $\geq 18$  лет (у) с HPP с началом в детском возрасте, получавших асфотазу альфа в течение 12 месяцев (мес.) в ходе стандартного лечения в 1 центре. Были получены данные от 14 пациентов в возрасте 19-78 у (медиана 52 у) с сочетанными гетерозиготными мутациями гена ALPL и были исследованы анамнезы скелетных (по меньшей мере 1 перелом) и других проявлений HPP. На исходном уровне концентрация пиридоксаль-5'-фосфата (PLP) в сыворотке крови составляла в медиане 286 нг/мл и значимо уменьшалась (n=12, P=0,005) спустя 12 m лечения до 8,5 нг/мл (норма: 5-30). Имели место значимые снижения соотношения фосфоэтаноламина (PEA)/креатинина в моче (n=11, P=0,008) с уменьшением от 54,9 ммоль/моль креатинина на исходном уровне до 22,4 ммоль/моль креатинина через 12 m (норма: 2,3-11,3). Временное увеличение уровня паратиреоидного гормона, составляющее 1-84, через 3 m лечения не сопровождалось изменениями уровня кальция или фосфата.

Наблюдали значимое временное увеличение уровня N-пропептида проколлагена 1-го типа (PINP) через 3 m и остеокальцина через 3 m и 6 m; оба возвращались к почти исходному уровню к 12 m. Численные увеличения N-телопептида коллагена 1-го типа (NTx) и тартратрезистентной кислой фосфатазы 5b (TRAP 5b) не были статистически значимыми.

Первая систематическая оценка маркеров обновления костной ткани во время лечения асфотазой альфа отражает, что, помимо значимого снижения PLP и PEA и улучшения минерализации костной ткани, асфотаза альфа способствует ремоделированию костной ткани у взрослых с HPP с началом в детском возрасте.

# Пример 8. Лечение взрослого пациента с HPP с атипичным переломом бедренной кости (AFF)

У взрослого субъекта мужского пола (в возрасте 52 лет) с НРР с началом в детском возрасте имеет место АFF, но нет других дефектов минерализации костной ткани. Субъекту может быть назначено лечение асфотазой альфа, подлежащей введению в дозе, составляющей 6 мг/кг/неделя, или в более низкой дозе, в течение трех месяцев. Субъекта можно наблюдать ежемесячно на предмет регенерации перелома. Через три месяца, если наблюдается умеренная, но не полная регенерация перелома, лечение можно продлить на дополнительные три месяца с использованием той же дозировки. АFF можно наблюдать в ходе лечения до устранения. После устранения следует попробовать более низкую дозировку. Как правило, терапию рекомендуют в течение всей жизни пациента для минимизации каких-либо потенциальных проблем, связанных с антителами к лекарственным средствам.

#### Пример 9. Лечение взрослого пациента с AFF

У взрослого субъекта женского пола (в возрасте 45 лет), без НРР, которая подвергается лечению бисфосфонатом, имеет место AFF. Субъекту может быть назначено лечение асфотазой альфа, подлежащей введению в дозе, составляющей 6 мг/кг/неделя, в течение шести месяцев. Субъекта можно наблюдать ежемесячно на предмет регенерации перелома. Через три месяца, если наблюдается полная регенерация перелома, терапию можно прекратить досрочно. Пациентке можно прописать три месяца физиотерапии, и она может возобновить нормальные физические активности через шесть месяцев после травмы.

# Пример 10. Физическая функция и связанное со здоровьем качество жизни у взрослых, подвергавшихся лечению асфотазой альфа по поводу HPP с началом в детском возрасте

# Материалы и способы

#### Дизайн исследования

Это было обсервационное, ретроспективное и проспективное, одноцентровое исследование с участием взрослых (в возрасте ≥18 лет) с диагнозом НРР с началом в детском возрасте, которые получали лечение асфотазой альфа в ходе стандартной клинической практики в течение по меньшей мере 30 месяцев.

# Исследуемая популяция

Были включены взрослые с НРР с началом в детском возрасте (подтвержденной

низким уровнем щелочной фосфатазы и/или мутацией гена щелочной фосфатазы (*ALPL*) и клиническими признаками и/или симптомами, соответствующими HPP), которые получали асфотазу альфа в течение по меньшей мере 30 месяцев. Перед включением в исследование всеми индивидуумами было предоставлено информированное согласие. Лечение по поводу HPP и лечение асфотазой альфа проводили в соответствии с клинической практикой, предусматривающей непрерывные назначения физиотерапии и мануальной терапии, аналогичные ранее установленным индивидуальным требованиям. Начальную дозу асфотазы альфа определял лечащий врач. Рекомендуемый режим введения доз асфотазы альфа предусматривает подкожную инъекцию либо 2 мг/кг веса тела 3 раза в неделю, либо 1 мг/кг веса тела 6 раз в неделю.

### Сбор данных

Данные по демографии, возрасту на момент начала НРР и связанными с НРР проявлениями собирали ретроспективно из электронных и печатных медицинских карт пациентов за период ретроспективного анализа, соответствующий времени от включения в исследование до наиболее ранней задокументированной даты постановки диагноза НРР (или рождения, если применимо). Данные, собранные как ретроспективно, так и проспективно, включали клинические симптомы, оценку физической функции, оценки HRQoL, нежелательные явления (АЕ) и информацию о лечении асфотазой альфа. Сбор данных был основан на доступной информации об оценках, обычно проводимых в данной группе пациентов в исследовательском центре (т. е. не проводилось никаких исследований, выходящих за рамки стандарта лечения). Клинические оценки на исходном уровне как правило фиксировали за 6 месяцев до начала заместительной ферментной терапии. Оценки в ходе последующего наблюдения, в том числе сбор данных, регулярно проводили согласно графику через 3, 6, 12, 18, 24 и 30 месяцев лечения.

#### Подробное описание процедур

### Краткая батарея тестов физического функционирования (SPPB)

SPPB представляет собой суммарный показатель работоспособности, состоящий из скорости ходьбы на 4 м в обычном темпе, временного теста повторного вставания со стула и 3 тестов на равновесие в положении стоя с возрастающей сложностью (еще не проводились). Каждому показателю эффективности присваивали категориальный балл, находящийся в диапазоне от 0 (неспособность выполнить тест) до 4 (оптимальное прохождение). Обобщенный балл, находящийся в диапазоне от 0 (наихудшие исполнители) до 12 (наилучшие исполнители), рассчитывали путем суммирования баллов по 3 компонентам.

# Скорость ходьбы на 4 метра

Тест скорости ходьбы на 4 метра является частью SPPB. Участник также должен был способен ходить без посторонней помощи без применения трости или ходунков. Скорость ходьбы определяли в помещении на ровной поверхности, отмеченной на старте и через 4 метра от старта. Пациента инструктировали пройти в своем обычном темпе от отметки старт, пройдя отметку 4 м без задержки. Секундомер запускали, если врач говорил

"начали", и останавливали, когда первая нога пересекала финишную черту. Данный тест повторяли еще 2 раза. Для расчета скорости ходьбы применяли более быстрый результат из двух тестов.

# Тест вставания со стула

Тест вставания со стула представлял собой метод измерения силы и выносливости. Применяли стул с прямой спинкой и без подлокотников (высота сиденья 43 см=17 дюймов). Во время теста участника усаживали посередине стула, ноги сгибали на 90°, и руки скрещивали перед грудной клеткой. Ступни располагались без отрыва от пола. Секундомер запускали, если врач говорил "начали". Участник вставал в положение стоя и полностью садился обратно как можно быстрее. Данную процедуру проводили пять раз. Часы останавливали, когда участник занимал последнее положение стоя.

#### Тест 6-минутной ходьбы

6МWT проводили для оценки максимального расстояния, которое человек может пройти за 6-минутный период. Расстояние ходьбы должно было составлять 30 м в длину. Длину коридора отмечали через каждый метр. Точки разворота отмечали конусом или чемто иным. Линию старта, которая обозначала начало и конец каждого 60-метрового круга, отмечали на полу с применением яркоокрашенной ленты.

### Тест на ручном динамометре

Силу хвата измеряли у доминантной и недоминантной руки с применением ручного динамометра. В общей сложности проводили по три процедуры обоюдно на каждую правую и левую руку. Пауза между измерениями составляла 20 секунд. Тест проводили, когда участник сидел на стуле без подлокотников. Сначала измеряли силу хвата доминантной рукой. Локтевой сустав был согнут под углом 90°, а запястье находилось в удобном положении (примерно 0-30° разгибания запястья). Отмечали любые противопоказания к проведению теста.

#### Переменные

#### Физическая функция

Физическую функцию пациентов оценивали с применением валидированных качественных и количественных показателей. Первичные результаты измерений представляли собой следующие: тест 6-минутной ходьбы (6МWТ), временной тест "встань и иди" (TUG), краткая батарея тестов физического функционирования (SPPB; суммарный показатель работоспособности, состоящий из теста на равновесие, теста на скорость обычной ходьбы на 4 м и теста повторного подъема со стула) и тест на ручном динамометре (сила хвата). Шкала функций нижних конечностей (LEFS) была вторичным результатом измерения физической функции. Если применимо, документировали, требовалось ли пациенту вспомогательное устройство (например, костыли или ходунки) для проведения данных оценок.

### Связанное со здоровьем качество жизни и боль

HRQoL оценивали как вторичный результат с применением краткой формы опросника состояния здоровья из 36 пунктов версии 2 (SF-36v2). Распространенность боли

оценивали с применением следующих пяти категорий: никогда, редко, иногда, часто или постоянно. При наличии боли ее интенсивность количественно оценивали с применением шкалы Лайкерта из 10 пунктов. Также собирали информацию о применении пациентами обезболивающих лекарственных препаратов.

### Реакции в месте инъекции и отчетность по безопасности

Всем пациентам было рекомендовано постоянно контролировать места инъекции и документировать любые результаты местных или системных наблюдений, которые они могли производить сами в связи с инъекциями. Все серьезные и несерьезные АЕ, которые регистрировал пациент и/или которые были выявлены в ответ на открытые вопросы лечащего врача или выявлены в ходе наблюдения, медицинского осмотра или других исследовательских процедур, документировали в протоколах исследования/исходных документах пациента.

#### Анализ данных

Для анализа данных применяли статистическое программное обеспечение SPSS Statistics 25 (SPSS Inc., компания IBM, Чикаго, Иллинойс, США). Количественные переменные представляли в виде медианных средних значений с межквартильным размахом (IQR) или средних значений со стандартным отклонением (SD). Их тестировали на нормальное распределение с применением критерия Шапиро-Уилка. По причине значительных отклонений от нормального распределения последующие анализы проводили с применением непараметрических способов. Сравнения между исходным уровнем и 3, 6, 12, 18, 24 и 30 месяцами лечения для каждой переменной оценивали с применением теста согласованных пар Уилкоксона; в статистический анализ включали только пациентов, у которых были данные для обоих сравниваемых моментов времени. Для качественных переменных приведены абсолютные и процентные частоты. Все тесты были двусторонними с уровнем значимости, составляющим 5%. Поскольку настоящий анализ был преимущественно описательным, альфа-коррекцию для множественного тестирования не применяли. Представление лонгитудинальных результатов включало только тех пациентов, у которых были доступны данные для всех 4 моментов времени.

#### Результаты

В начале терапии 21 пациент получал недельную медианную дозу (мг/кг BW) асфотазы альфа, составляющую 6,0 мг, диапазон 3,0 мг - 6,0 мг (среднее значение мг/кг BW  $5,4\pm1,1$ ). Это соответствует недельной медианной дозе, составляющей 6,3 мг/кг идеального веса тела (iBW). Большая часть пациентов (n=19) получала инъекции асфотазы альфа 3 дня в неделю, двое пациентов получали инъекции 4 дня в неделю. Тринадцать пациентов получали в общей сложности 6 шприцев в неделю, 4 пациента получали 3 шприца, 2 пациента получали 9 шприцов, и 1 пациент получал 2 или 4 шприца соответственно. Медианный вес тела для расчета дозы асфотазы альфа составлял 65,0 кг, диапазон 46,0-123,0 кг, средний вес составлял 73,2 $\pm21,0$  кг. В ходе периода лечения у одного пациента было произведено не более 5 изменений недельной дозы асфотазы альфа. У 17 пациентов было по меньшей мере 1 изменение, дополнительное изменение имело место у 9 пациентов,

у 3 пациентов было 3 изменения, у 2 пациентов было 2 изменения и у 1 пациента было 5 изменений недельной дозы асфотазы альфа. Подробная информация об изменениях недельной дозы асфотазы альфа (мг/кг ВW) представлена на фиг. 5. Изменения недельной дозы асфотазы альфа в мг/кг iBW представлены на фиг. 6. Изменения введения доз производили в соответствии с наилучшей клинической практикой по решению лечащего врача. Фактический вес тела (BW) относится к истинному весу субъекта. Идеальный вес тела (iBW) относится к расчетному весу тела субъекта, который представляет собой скорректированный вес, учитывающий физические переменные субъекта, такие как возраст, пол, рост, размер корпуса, размер запястья и т. п.

# Демографические данные и клинические характеристики пациентов на исходном уровне

В общей сложности в анализ было включено 14 пациентов (11 женщин, 3 мужчины, их средний возраст (SD) составлял 51 (17) лет в диапазоне от 19 до 78 лет (таблица 11)). Все пациенты не были родственниками, имели сочетанные гетерозиготные мутаций *ALPL* и имели задокументированные костные проявления заболевания (в том числе наличие в анамнезе сведений о по меньшей мере одном переломе) в дополнение к другим связанным с НРР проявлениям. Двенадцать пациентов начали прием с дозировки асфотазы альфа, составляющей приблизительно 6,0 мг/кг/неделя; два пациента, которые были обеспокоены потенциальными побочными эффектами, начали прием с дозы, составляющей 3,0 мг/кг/неделя. Всем пациентам недельную дозу вводили в течение трех дней инъекций. Введение доз корректировали по клиническим показаниям во время 30 месяцев лечения.

Таблица 11. Демографические данные и клинические характеристики пациентов на исходном уровне

Характеристика	Пациенты (N=14)
Пол, п (%)	
Женщины	11 (79)
Возраст на исходном уровне, лет	
Среднее (SD)	51 (17)
Диапазон	19-78
Средний рост, см (SD)	
Мужчины	175 (5)
Женщины	157 (9)
Средний вес, кг (SD)	
Мужчины	98 (18)
Женщины	73 (22)
Средний ВМІ, кг/м² (SD)	
Мужчины	32 (7)

Женщины	30 (8)					
Сочетанные гетерозиготные мутации ALPL, n (%)	14 (100)					
Средний уровень активности ALP на исходном						
уровне, МЕ/л (SD) <sup>а</sup>						
Мужчины	14 (4)					
Женщины	18 (7)					
Средняя активность PLP на исходном, нг/мл	451 (390)					
(SD) <sup>b</sup>						
Среднее соотношение РЕА/креатинин на	76 (59)					
исходном уровне, ммоль/моль креатинина <sup>с</sup>						
Статус менопаузы (только для женщин)						
Постменопауза (n, %) <sup>d</sup>	5 (45)					
Наличие в анамнезе сведений о связанных с						
<b>НРР</b> проявлениях, п (%) <sup>с</sup>						
Стоматологические	14 (100)					
Переломы	14 (100)					
Мышечные	14 (100)					
Неврологические	6 (43)					
Почечные	3 (21)					
Ревматические	3 (21)					
Скелетные	14 (100)					
Боль	14 (100)					
	1					

ALP= щелочная фосфатаза; ALPL= ген щелочной фосфатазы; BMI= индекс массы тела;

HPР=гипофосфатазия; РЕА=фосфоэтаноламин; PLР=пиридоксаль-5'-фосфат; SD=стандартное отклонение.

<sup>а</sup>Эталонные диапазоны для ALP: 53-128 МЕ/л (мужчины), 42-98 МЕ/л (женщины).

<sup>b</sup>Эталонный диапазон для PLP: 5-30 нг/мл

<sup>с</sup>Эталонный диапазон для соотношения PEA/креатинин: 2,3-11,3 ммоль/моль креатинина; у трех пациентов данные не были доступны.

<sup>d</sup>Рассчитано в виде доли женщин-пациентов; у одного пациента данные не были недоступны.

<sup>е</sup>Рассчитано в виде доли пациентов, у которых были доступны данные.

<sup>f</sup>За исключением переломов. Диагнозы, связанные со скелетной структурой, включали искривление трубчатых костей, врожденную деформированную стопу, краниосиностоз, сколиоз и кифоз.

### Физическая функция

### Тест 6-минутной ходьбы

Из 14 пациентов в данном исследовании 13 проходили оценки 6МWТ в каждый момент времени. На исходном уровне медианное (IQR) пройденное расстояние составляло 267 (0-368) м (среднее [SD], 237 [223] м), которое увеличилось до 320 (234-469) м через 12 месяцев лечения (среднее [SD], 335 [159] м) (фиг. 3A). Изменение медианного расстояния 6МWТ, проходимого в интервале от исходного уровня до 12 месяцев, составляло 53 м (p=0,023), что соответствовало улучшению на 20%. Медианные изменения в интервале от исходного уровня до 3 месяцев, а также от исходного уровня до 6 месяцев лечения составляли -7 м и 39 м соответственно. Изменение расстояния 6МWТ в интервале от исходного уровня до 18 и 24 месяцев значимо не отличалось (p=0,221 и p=0,060 соответственно). Медианное расстояние было схожим через 12 и 24 месяца (p=0,115) и через 30 месяцев (p=0,133) (фиг. 7).

Семь из поддающихся оценке пациентов нуждались во вспомогательных устройствах для завершения 6МWT на исходном уровне (трое пациентов применяли костыли, четверо применяли ходунки). Двое из данных пациентов были способны пройти тест без посторонней помощи позже в ходе исследования; один пациент был способен пройти тест без посторонней помощи через 3 месяца, и другой пациент был способен пройти 12-месячную оценку без вспомогательных устройств. Ни один из пациентов, которые ходили без посторонней помощи в начале исследования, не нуждался в посторонней помощи в любой другой момент времени в ходе исследования.

### Временной тест "встань и иди"

В общей сложности девять пациентов были способны пройти тест TUG во все моменты времени. Медианное (IQR) время завершения теста TUG составляло 14,4 (10,7-28,9) с на исходном уровне и снижалось до 11,3 (9,4-16,9) с через 12 месяцев лечения (фиг. 3В). Изменение медианного времени завершения теста в интервале от исходного уровня до 12 месяцев лечения соответствовало улучшению на 22% и было статистически значимым (p=0,008). Медианное (IQR) время завершения теста через 3 месяца и 6 месяцев лечения составляло 13,6 (10,9-20,3) с и 12,2 (10,1-17,8) с соответственно; данное изменение было статистически значимым при сравнении на исходном уровне и через 6 месяцев лечения (p=0,021). Один пациент нуждался во вспомогательном устройстве для завершения данного теста на исходном уровне, но он более не нуждался в нем через 3 месяца лечения.

Значимые различия в продолжительности TUG наблюдали в интервале от исходного уровня до 12, 18 и 24 месяцев (p=0,008, p=0,018 и p=0,013 соответственно). Ранние улучшения медианного времени завершения теста TUG через 12 месяцев оставались стабильными в интервале от 12 до 24 месяцев лечения (p=0,382). Продолжительность через тридцать месяцев была схожа с таковой для 24 месяцев (фиг. 10).

### Краткая батарея тестов физического функционирования

В общей сложности 10 пациентов проходили тест скорости ходьбы на 4 м, компоненты в форме стойки с положением стоп перпендикулярно и стойки с положением

стоп последовательно SPPB на исходном уровне и во время визитов для последующего наблюдения; 9 пациентов проходили тест повторного подъема со стула во все моменты времени. Медианная (IQR) скорость ходьбы на 4 м составляла 0.8~(0.7-1.1)~м/c на исходном уровне и 1.1~(0.8-1.4)~м/c через 12 месяцев лечения (фиг. 3C). Изменение медианной обычной скорости ходьбы было значимым при сравнении на исходном уровне с таковой через 12 месяцев лечения (p=0,007) и соответствовало улучшению на 38%. Через 3 месяца и 6 месяцев лечения медианная (IQR) скорость ходьбы составляла 1.1~(0.7-1.2)~м/c и 1.0~(0.8-1.3)~м/c соответственно.

Значимые различия в скорости ходьбы наблюдали в интервале от исходного уровня до 12 месяцев (p=0,007) и до 24 месяцев (p=0,017), в то время как изменение от исходного уровня до 18 месяцев значимо не отличалось (p=0,173). Незначительное снижение медианной скорости ходьбы в интервале от 12 до 24 месяцев не было статистически значимым (p=0,610). Медианная скорость ходьбы значимо увеличивалась через 30 месяцев (p=0,012) по сравнению с исходным уровнем (фиг. 8A и 8B).

Четырем пациентам потребовалось вспомогательное устройство для завершения данной оценки на исходном уровне; двое из них выполняли задание без посторонней помощи по состоянию на 3 месяца лечения, а другому пациенту больше не требовалось вспомогательное устройство для выполнения теста после 6 месяцев лечения. Медианное (IQR) время завершения теста повторного подъема со стула составляло 22,2 (16,2-30,8) с на исходном уровне и 13,0 (10,8-22,4) с через 12 месяцев лечения (фиг. 3D). Изменения по сравнению с исходным уровнем были значимыми через 3, 6 и 12 месяцев лечения (все p=0,008) и соответствовали улучшению на 41%.

Значимые различия во времени подъема со стула наблюдали в интервале от исходного уровня до 12, 18 и 24 месяцев (p=0,008, p=0,012 и p=0,008 соответственно). Ранние улучшения медианного времени подъема со стула через 12 месяцев оставались стабильными в интервале от 12 до 24 месяцев лечения (p=0,398). Время подъема со стула через 30 месяцев было схожим с таковым через 24 месяца.

На исходном уровне все пациенты могли удерживать стойку с положением стоп перпендикулярно в течение 10 секунд. Один пациент не был способен выполнить данное задание через 3 месяца лечения, но был способен выполнить его через 6 месяцев и 12 месяцев лечения.

На исходном уровне восемь пациентов были способны удерживать стойку с положением стоп перпендикулярно в течение 10 секунд. Два пациента, которые не были способны выполнить данное задание, были способны выполнить его через 12 месяцев лечения. Один пациент, который не был способен выполнить задание на исходном уровне, не был способен его выполнить через 12 месяцев лечения. Данные за 30 месяцев представлены на фиг. 9.

### Дополнительная физиотерапия

Также исследовали эффекты дополнительной физиотерапии. Были доступны данные для 16 пациентов; из них физиотерапию получали 15 пациентов, массаж получали 8

пациентов, мануальную терапию получали 5 пациентов, термотерапию получали 4 пациента, лимфодренаж получали 2 пациента (см. таблицу 12).

Что касается способности ходить, 13 пациентов из 21 (61,9%) нуждались в помощи при ходьбе, и 8 пациентов (38,1%) могли ходить без посторонней помощи на исходном уровне.

В месяц 3 8 пациентов (38,1%) нуждались в помощи при ходьбе, и 11 пациентов (52,4%) были способны ходить без посторонней помощи. Данные отсутствовали у 2 пациентов.

В месяц 6 и месяц 12 6 пациентов (28,6%) нуждались в помощи при ходьбе, и 14 пациентов (66,7%) были способны ходить без посторонней помощи. Данные отсутствовали у 1 пациента.

В месяц 18 4 пациента (19,0%) нуждались в помощи при ходьбе, и 12 пациентов (57,1%) были способны ходить без посторонней помощи. Данные отсутствовали у 5 пациентов.

В месяц 24 5 пациентов (23,8%) нуждались в помощи при ходьбе, и 11 пациентов (52,4%) были способны ходить без посторонней помощи. Данные отсутствовали у 5 пациентов.

В месяц 30 5 пациентов (23,8%) нуждались в помощи при ходьбе, и 9 пациентов (42,9%) были способны ходить без посторонней помощи. Данные отсутствовали у 7 пациентов. Сводная информация о применяемых вспомогательных устройствах представлена в таблице 12.

Четырнадцать пациентов из 21 утверждали, что занимались спортом; 4 пациента сообщили о редком занятии, 8 пациентов сообщали о занятии по меньшей мере один раз в неделю, и 2 пациента сообщали о занятии по меньшей мере два раза в неделю.

Таблица 12. Вспомогательные устройства, применяемые при ходьбе

Таоли	<u> </u>				<del>. •</del>	1		римс			11 110,	двос		
Визит	Исхо	одный	Месяц 3 Месяц 6		Месяц Месяц			Месяц		Месяц				
	уров	вень					12		18		24		30	
Устройство	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Костыли	8	38,1	4	19,0	4	19,0	2	9,5	1	4,8	1	4,8	1	4,8
Ходунки	1	4,8	1	4,8	1	4,8	1	4,8	0	0	2	9,5	1	4,8
Кресло- коляска	4	19,0	3	14,3	1	4,8	3	14,3	3	14,3	1	4,5	2	9,5
Трость	0	0	0	0	0	28,6	0	0	0	0	1	4,8	1	4,8
Итого	13	61,9	8	38,1	6	0	6	28,6	4	19,0	5	23,8	5	23, 8
Отсутствует	8	38,1	13	61,9	15	71,4	15	71,4	17	81,0	16	76,2	16	76,
														2

Сила хвата (доминантная рука)

Измерения силы хвата были доступны для 12 из 14 пациентов во все моменты времени. Медианная (IQR) силы хвата составляла 22,7 (11,6-25,3) кг на исходном уровне и 22,5 (14,3-25,4) кг через 12 месяцев лечения. Через 3 месяца и 6 месяцев лечения медианная (IQR) сила хвата составляла 22,8 (12,4-25,1) кг и 22,7 (13,6-25,7) кг соответственно. Хотя изменения были значимыми через 6 месяцев (p=0,031) и 12 месяцев лечения (p=0,046) по сравнению с исходным уровнем, изменение соответствовало улучшению всего на 1%. Величина эффекта была небольшой, поэтому маловероятно, что изменения будут клинически значимыми.

Статистически значимое изменение силы хвата доминантной рукой можно было наблюдать при сравнении в интервале от исходного уровня до месяца 6 (p=0,033), до месяца 18 (p=0,008), до месяца 24 (p=0,015) и до месяца 30 (p=0,028). В месяц 3 и 23 различие не было статистически значимым.

У всех пациентов наблюдали увеличение силы хвата доминантной рукой у 10 пациентов в месяц 3 и месяц 12, у 13 пациентов в месяц 6 и 18, у 11 пациентов в месяц 24 и снова у 10 пациентов в месяц 30. У 9 пациентов в месяц 3 и 12, у 6 пациентов в месяц 6, у 2 пациентов в месяц 18, у 4 пациентов в месяц 24 и у 3 пациентов в месяц 30 наблюдалось ухудшение силы хвата (фиг. 11А и 11В).

# Шкала функций нижних конечностей (LEFS)

Десять из 14 пациентов, включенных в данное исследование, имели данные LEFS для всех моментов времени. На исходном уровне медианный балл (IQR) по LEFS составлял 24 (17-54) пункта, который увеличился до 53 (36-65) пунктов через 12 месяцев лечения (фиг. 4A). Изменение в баллах в промежутке от исходного уровня до 12 месяцев лечения было значимым (p=0,002) и соответствовало улучшению на 121%, что свидетельствует об улучшении способности выполнять повседневные виды деятельности. Медианный (IQR) балл по LEFS составлял 44 (31-56) пункта через 3 месяца лечения и 52 (36-63) пункта через 6 месяцев лечения (p=0,009 и p=0,010 соответственно по сравнению с исходным уровнем).

Значимые различия в баллах по LEFS наблюдали в интервале от исходного уровня до 12, 18 и 24 месяцев (p=0,002, p=0,004 и p=0,004 соответственно). Ранние улучшения медианных баллов по LEFS через 12 месяцев оставались стабильными в интервале от 12 до 24 месяцев лечения (p=0,813).

Медианный, а также средний суммарный балл по LEFS сильно увеличивались на всех визитах по сравнению с исходным уровнем. Увеличение суммарного балла по LEFS было значимым во всех протестированных моментах времени (3, 6, 12, 18, 24 и 30 месяцев) по сравнению с исходным уровнем (критерий знаковых рангов Уилкоксона, p=0,005, p=0,001, p=0,000, p=0,002, p=0,002 и p=0,006 соответственно) (фиг. 14).

### Связанное со здоровьем качество жизни и боль

# Краткая форма опросника состояния здоровья из 36 пунктов версии 2

В общей сложности 9 пациентов проходили SF-36v2 во всех четырех моментах времени. На исходном уровне медианный балл (IQR) обобщения физического компонента (PCS) составлял 26 (21-31), который возрастал до 33 (26-45) через 12 месяцев лечения

(p=0,010) (фиг. 4B); улучшение на 27%. Изменения также были значимыми в интервале от исходного уровня до 3 месяцев (p=0,028). Медианный балл (IQR) обобщения психического компонента (MCS) составлял 53 (33-60) на исходном уровне и 56 (39-60) через 12 месяцев лечения (фиг. 4C); улучшение на 5%. Для балла по MCS никаких статистически значимых изменений не наблюдали ни в одном из моментов времени по сравнению с исходным уровнем.

Значимые различия в баллах по PCS наблюдали в интервале от исходного уровня до 12, 18 и 24 месяцев (p=0,010, p=0,003 и p=0,003 соответственно). Ранние улучшения баллов по PCS Sf-36v2 через 12 месяцев оставались стабильными в интервале от 12 до 24 месяцев лечения (p=0,422). 30-месячные баллы по PCS представлены на фиг. 12 и были схожи с таковыми для 24 месяцев.

Никаких значимых различий в баллах по MCS не наблюдали в интервале от исходного уровня до 12, 18 и 24 месяца (p=1,000, p=0,131 и p=0,424). Медианные баллы по MCS SF-36v2 были схожими через 12 и 24 месяца лечения.

#### Боль

Информация о распространенности боли по категориям (в категориях никогда, редко, иногда, часто или постоянно) была доступна для всех 14 пациентов на исходном уровне, для 12 пациентов через 3 месяца и 6 месяцев и для 13 пациентов через 12 месяцев. За исключением одного пациента на исходном уровне, все пациенты сообщали о том, что в любой заданный момент времени они испытывали боль. На исходном уровне 9/14 пациентов (64%) сообщали о постоянных или частых болях; эта доля уменьшилась до 3/12 пациентов (25%) через 6 месяцев и 5/13 пациентов (38%) через 12 месяцев. Данные об интенсивности боли были доступны для 13 пациентов на исходном уровне, для 11 пациентов через 3 месяца и 6 месяцев и для 13 пациентов через 12 месяцев; при наличии боли ее интенсивность количественно оценивали с помощью шкалы Лайкерта из 10 пунктов (1=минимальная боль, 10=максимально возможная боль). Медианная (IQR) интенсивность боли на исходном уровне составляла 6 (4-8,25) пунктов, которая снижалась до 5 (4-6) пунктов через 12 месяцев лечения (фиг. 4D); улучшение на 17%. Через 3 месяца и 6 месяцев лечения медианная (IQR) интенсивность боли составляла 5 (4-7) и 4 (3,5-5,75) пункта соответственно. Изменения медианной интенсивности боли по сравнению с исходным уровнем через 3 месяца и 12 месяцев лечения не были статистически значимыми; однако значимое снижение интенсивности боли по сравнению с исходным уровнем наблюдали через 6 месяцев лечения (p = 0.036).

У двенадцати пациентов были доступны данные об обезболивающих лекарственных препаратах на исходном уровне; все они применяли обезболивающий

лекарственный препарат до начала лечения асфотазой альфа. Восемь из данных пациентов применяли обезболивающие лекарственные препараты ежедневно, и шесть пациентов применяли комбинацию обезболивающих лекарственных препаратов. Через 6 месяцев лечения двое из данных пациентов смогли прекратить прием обезболивающего лекарственного препарата; один из данных пациентов не применял обезболивающий

лекарственный препарат в течение 12 месяцев. На протяжении курса исследования четыре пациента снизили их применение обезболивающего лекарственного препарата с ежедневного до применения по мере необходимости.

Статистически значимое снижение уровня боли наблюдали через 18 месяцев (p=0,011); однако снижение уровня боли через 12 месяцев (p=0,139) и 24 месяца (p=0,380) не было статистически значимым. Изменения уровня боли варьировали в интервале от 12 до 24 месяцев.

Через 30 месяцев отмечали, что число пациентов, сообщающих о боли, со временем уменьшалось почти для всех мест локализации боли, кроме предплечья (фиг. 13).

#### Реакции в месте инъекции и отчетность по безопасности

Ретроспективная оценка доступных зарегистрированных данных от пациентов и лонгитудинальные данные фотодокументации места инъекции и реакций в месте инъекции показала, что половина пациентов (n=7) самостоятельно вводили инъекции асфотазы альфа, а половине из них лекарственное средство вводил их партнер или друг.

Хотя пациентам было рекомендовано чередовать применение четырех мест для подкожных инъекций, в том числе живот, бедро, плечо и ягодичную область, лишь один пациент постоянно применял все места для инъекций. Восемь пациентов применяли 3 разных места; трое пациентов применяли 2 места; а два пациента переносили инъекции только в одно место инъекции (один в живот, один в ягодичную область).

В общей сложности 11 из 14 пациентов отмечали покраснение и/или болезненность в местах инъекций с различной интенсивностью и продолжительностью в какой-то момент времени в течение первых 3 месяцев лечения; к 12 месяцам лечения данное число увеличивалось до 13 пациентов. Поражаемыми местами инъекций были живот (n=12), бедра (n = 4) и плечо (n = 3). Сравнение доступных фотографий в ходе исследования показало, что у пяти пациентов были обнаружены слабые начальные признаки растяжения мягких тканей на протяжении первых 3 месяцев лечения, в том числе выпячивание подкожной жировой ткани, что свидетельствовало о липогипертрофии; при пальпации не было обнаружено объемных жировых масс, а скорее провисание кожи, ткани, свидетельствовало дистрофии подкожной жировой обеспечивающей недостаточную фиксацию вышележащей кожи. Из 11 женщин, включенных в данное исследование, такие изменения были видны на животе у девяти из данных пациенток через 12 месяцев лечения; все эти пациентки до лечения имели обширную жировую ткань в области живота. Ни одно из данных растяжений мягких тканей не уменьшалось со временем; тем не менее, данные результаты не приводили к прерыванию или прекращению лечения. У двух женщин, не страдающих ожирением (одна из которых не делала инъекцию в живот), ни в одном из мест инъекций не наблюдалось растяжения тканей. У мужчин не наблюдалось соответствующего растяжения тканей, хотя у двоих из них была обширная жировая ткань в области живота.

В дополнение к реакциям в месте инъекции у пациентов, подвергавшихся лечению асфотазой альфа в течение 12 месяцев, было зарегистрировано в общей сложности 46 АЕ;

все пациенты испытывали по меньшей мере одно АЕ. Большинство из данных явлений (n =33) не были или были связаны с небольшой вероятностью с лечением асфотазой альфа; скорее они были связаны с основным заболеванием и/или сопутствующими заболеваниями, такими как дегенеративное заболевание позвоночника, боль в нижней части спины/люмбаго, остеоартрит коленного сустава, миогелоз (напряжение/скованность мышц), синдром выраженной боли в вертельной области и раздражение кожи. 13 АЕ, зарегистрированные как возможно связанные с лечением асфотазой альфа, представляли собой утомляемость (n =2), прибавку веса (n =2), головную боль (n =2), боль в спине, усиление боли, снижение способности выполнять ежедневные действия, стрессовый перелом, повышенное внутриглазное давление, непроходимость тонкого кишечника и раздражение кожи (n=1 для каждого).

### Обсуждение

Результаты данного исследования реальной когорты свидетельствуют о том, что асфотаза альфа эффективна в улучшении физического функционирования и HRQoL у взрослых с HPP с началом в детском возрасте. В исследовании также подчеркивается актуальность конкретных инструментов оценки для оценивания эффективности лечения и контроля улучшений у пациентов с течением времени.

В данном 30-месячном анализе участвовало больше женщин (n=16), чем мужчин (n=5). Средний возраст женщин составлял 52,0 года, а средний возраст мужчин составлял 38,4 года. Средний ВМІ составлял 30,0 кг/м2, диапазон 18,0-50,5 кг/м2 на исходном уровне. Не было значимого изменения между исходным уровнем и на V3, V6 или V12 и V18, но было значимое увеличение ВМІ при сравнении V0 с V24 и V30 с p=0,003 в каждом случае. Кроме того, можно было отметить значимое увеличение веса при сравнении V0 с V24 и с V30 с p=0,002 в каждом случае.

При оценке физической конституции выявлены значимые изменения фазового угла (значимое увеличение на V18 с p=0,002), питания клеточной массы тела (значимое снижение на V12 с p=0,044 и на V18 с p=0,023), питания мышечной массы (значимое увеличение на V18 с p=0,034) и питания жировой массы (значимое увеличение на V18 с p=0,039, V24 с p=0,028 и V30 с p=0,037).

В 6МWТ наблюдаемые изменения расстояния ходьбы не были статистически значимыми на V18 и V30, однако изменение было статистически значимым на всех остальных визитах (V3, p=0,012; V6, p=0,004; V12, p=0,002, V24, p=0,019). Что касается применения вспомогательных устройств на V18 и V24 (через 18 и 24 месяца), число пациентов, нуждающихся во вспомогательных устройствах, уменьшалось; 3 пациента (18,8%) из 16 нуждались во вспомогательных устройствах; ни у одного пациента в ходе исследования ухудшения не наблюдалось.

У 11 пациентов было улучшение скорости в тесте ходьбы на 4 м на V3, у 13 пациентов улучшение на V6 (у них скорость была выше), у 14 пациентов улучшение на V12, у 8 пациентов улучшение на V18, у 10 пациентов улучшение на V24 и у 9 пациентов улучшение можно было наблюдать на V30 по сравнению с исходным уровнем. Медианная

скорость ходьбы была значимо увеличивалась на всех визитах, кроме V18: V3 (p=0.021), V6 (p=0.008), V12 (p=0.001), V24 (p=0.010) и V30 (p=0.012).

В тесте подъема со стула почти все пациенты демонстрировали улучшение; время подъема было короче на всех визитах по сравнению с исходным уровнем, за исключением 1 пациента на V3, состояние которого ухудшилось. Результаты были статистически значимыми при сравнении медианного времени на исходном уровне с медианным временем на всех визитах V3, V6, V12, V18, V24 и V30 с p=0,002, p=0,001, p=0,001, p=0,008, p=0,005 и p=0,008 соответственно.

Уменьшение продолжительности TUG было статистически значимым на всех визитах V3, V6, V12, V18, V24 и V30 по сравнению с исходным уровнем с p=0,004, p=0,002, p=0,001, p=0,012, p=0,008 и p=0,028 соответственно. У одиннадцати пациентов улучшение имело место (сокращалось время) на V3, у 13 пациентов улучшение имело место на V6, у 14 пациентов улучшение имело место на V12, у 8 пациентов улучшение имело место на V18, у 9 пациентов улучшение имело место на V24, и у 8 пациентов улучшение имело место на V30 по сравнению с исходным уровнем. На V3 у 3 пациентов и на V6, V24 и V30 у 1 пациента продолжительность TUG была большей.

Статистически значимое изменение силы хвата доминантной рукой можно было наблюдать при сравнении в интервале от исходного уровня до V6 (p=0,033), до V18 (p=0,008), до V24 (p=0,015) и до V30 (p=0,028). На V3 и V12 разница не была статистически значимой. Улучшение силы захвата недоминантной рукой было статистически значимым только при сравнении исходного уровня с V24 с p=0,011.

Данные, относящиеся к общему восприятию здоровья, регистрируемому самими пациентами, не были согласованными, но менялись в ходе визитов. Например, на V3 по сравнению с исходным уровнем улучшение общего восприятия здоровья, регистрируемого самими пациентами, могло быть зарегистрировано у 12 пациентов, у 5 пациентов изменений не было, а у 1 пациента имело место ухудшение. На V18 восемь пациентов регистрировали улучшение, 3 пациента не почувствовали никаких изменений, и 2 пациента заявили, что их состояние здоровья ухудшилось. На V30 улучшение было у 6 пациентов, у 3 пациентов не было изменений, а у 4 пациентов самочувствие ухудшилось.

На всех визитах наблюдали количественное улучшение по пункту физического функционирования по сравнению с визитом 0, и данное улучшение было статистически значимым с p=0,002, p=0,001, p=0,001, p=0,003, p=0,005 и p=0,005 соответственно.

Вновь наблюдали количественное улучшение по пункту физического ролевого функционирования на V6, V12 и V18 по сравнению с визитом 0, и данное улучшение было статистически значимым (p=0,009, p=0,036, p=0,016 соответственно).

Улучшение медианного балла подшкалы телесной боли было статистически значимым при сравнении исходного уровня с V3, V6, V12 и V18 с p=0,044, p=0,030, p=0,002 и p=0,027 соответственно.

Значимое изменение в положительную сторону (улучшение) восприятия состояния здоровья можно было наблюдать между визитом 0 и V3, V6, V18, V24 и V30 с p=0,013,

p=0,001, p=0,004, p=0,011 и p=0,023 соответственно, но не на V12.

Улучшение жизненной активности можно было наблюдать у 14, 15, 13, 11 и 8 пациентов на соответствующем визите V по сравнению с исходным уровнем. Данное улучшение жизненной активности было статистически значимым при сравнении исходного уровня с визитами V3, V6, V12, V18 и V24 с p=0,006, p=0,001, p=0,013, p=0,005 и p=0,036, но не на V30.

Можно было продемонстрировать значимое улучшение между визитом 0 и V6, V12 и V18 (p=0,002, p=0,014, p=0,007). На данных визитах 12 из 17 пациентов (V6), 12 из 18 пациентов (V12) и 10 из 14 пациентов (V18) регистрировали улучшение социального функционирования.

Имело место статистически значимое улучшение психического здоровья, что регистрировали 13 пациентов из 18 на V6 и V12 и 11 пациентов из 14 на V18 по сравнению с исходным уровнем (p=0.024, p=0.014 и p=0.048 соответственно).

На всех визитах имело место значимое улучшение балла обобщения физических компонентов по сравнению с исходным уровнем (p=0.003, p=0.006, p=0.002, p=0.003 и p=0.001). В отличие от этого, изменение, связанное с баллами обобщения психического компонента, не было статистически значимым ни на одном из визитов.

Медианный, а также средний суммарный балл по LEFS сильно увеличивались на всех визитах по сравнению с исходным уровнем. Увеличение суммарного балла по LEFS было значимым во всех протестированных моментах времени по сравнению с исходным уровнем (p=0,005, p=0,001, p=0,000, p=0,002, p=0,002 и p=0,006).

Индивидуальный опросник по болевому синдрому: снижение уровня боли было статистически значимым (p=0.015 и p=0.027) при сравнении исходного уровня с V6 и V18. Кроме того, можно было отметить, что число пациентов, регистрировавших боль, со временем уменьшалось почти для всех мест локализации боли, кроме предплечья.

Анальгетики принимали почти все пациенты на протяжении всего хода исследования, причем принимали до 4 разных анальгетиков.

Из представленных здесь результатов было показано, что асфотаза альфа в ходе исследования была эффективна в улучшении физического функционирования, а также в повышении QoL у большинства пациентов.

Оценки физической функции и HRQoL в данной исследуемой популяции до начала лечения асфотазой альфа указывают на высокое бремя заболевания у взрослых пациентов с HPP с началом в детском возрасте по сравнению с популяцией здоровых взрослых того же возраста. Например, среднее расстояние 6MWT  $\pm$  SD, которое пациенты достигали на исходном уровне в данном исследовании, было значительно меньше, чем в популяции из 444 здоровых взрослых (237  $\pm$  223 м в сравнении с 571  $\pm$  90 м соответственно). Аналогично, медианное время в тесте TUG на исходном уровне было более длительным, чем наблюдаемое в когорте здоровых взрослых в их возрасте от 50 до 59 лет (14,4 с против 9,9 с соответственно); как и медианная сила хвата (22,7 кг в данном исследовании на исходном уровне по сравнению с 27 кг [женщины] и 46 кг [мужчины] в здоровой популяции Северной

Америки и Европы сходного возраста). Медианный балл по PCS в тесте SF-36v2 на исходном уровне также был значительно ниже, чем наблюдаемый в общей популяции страны (26 против 49 соответственно); однако медианные баллы по MCS на исходном уровне в данных популяциях существенно не отличались.

Среди первичных результатом измерения физической функции (6MWT, тест TUG, SPPB и сила хвата) как в 6MWT, так и в TUG, а также в двух из трех компонентов SPPB наблюдали статистически значимые улучшения в интервале от исходного уровня до, в некоторых случаях, 12 месяцев лечения, что демонстрировало эффективность асфотазы альфа в улучшении функционального здоровья взрослых пациентов с HPP с началом в детском возрасте. Минимальные клинически значимые различия (МСІD) у взрослых с HPP были установлены для 6МWT (31 м); в данном исследовании медианное расстояние 6МWT увеличивалось на клинически значимые 39 м через 6 месяцев и на 53 м через 12 месяцев лечения по сравнению с исходным уровнем. Хотя улучшения, наблюдаемые через 6 месяцев, не были значимыми, спустя 12 месяцев были отмечены статистически значимые улучшения. Аналогично, во время лечения увеличивалась скорость обычной ходьбы, и данное улучшение достигало статистической значимости через 12 месяцев лечения. Кроме того, улучшение физической функции наблюдали для времени теста TUG и теста подъема со стула. Время выполнения данных тестов значимо уменьшалось уже через 6 месяцев лечения для теста TUG и через 3 месяца лечения для теста повторного подъема со стула.

Сила хвата была рекомендована в качестве показателя мышечной силы у пациентов детского возраста с НРР, и ранее ее применяли в исследованиях когорт участников детского возраста; однако доказательств его применения в качестве показателя в популяциях взрослых мало, а его полезность не определена. Изменения в силе хвата, наблюдаемые в коде лечения в данном исследовании, не были клинически значимыми и не такими существенными, как улучшение силы разгибателей и отводящих мышц бедра, которые были зарегистрированы в клиническом исследовании с участием пациентов, получавших асфотазу альфа. Оценка мышечной силы у данных пациентов, вероятно, систематически откланяется вследствие различных вмешивающихся факторов, в том числе боли и проблем с костями и суставами. Следовательно, остается определить, как наилучшим образом измерить мышечную силу и работоспособность у данных пациентов.

Статистически значимые улучшения также были зарегистрированы по LEFS, вторичный результат измерения физической функции в данном исследовании. Балл по LEFS значимо увеличивался уже через 3 месяца лечения асфотазой альфа и оставался стабильным во всех моментах времени последующего наблюдения по сравнению с исходным уровнем. Данные увеличения были значимо большими, чем МСІD из 9 пунктов, рассчитанные Binkley *et al* для популяции пациентов с мышечно-скелетной дисфункцией нижних конечностей и пациентов, наблюдавшихся в принимавшей участие в клиническом испытании популяции взрослых, получавших асфотазу альфа в течение аналогичного периода времени, и демонстрировали улучшение способности пациентов выполнять повседневные задачи.

Улучшения физического благополучия также отражались в значительных улучшениях

вторичных результатов измерений HRQoL. Улучшения медианного балла по PCS SF-36v2 в ходе исследования были статистически значимыми через 3 месяца и 12 месяцев лечения асфотазой альфа по сравнению с исходным уровнем. Это указывает на общее улучшение физического здоровья, всесторонней оценки областей физического функционирования, физического ролевого функционирования, телесной боли и общего состояния здоровья. Хотя медианный балл по MCS (который охватывает показатели жизненной активности, социального функционирования, эмоционального ролевого функционирования и психического здоровья) также был немного увеличенным во все моменты времени по сравнению с исходным уровнем, это не было значимым. Учитывая, что в нескольких исследованиях было описано психическое и эмоциональное воздействие HPP на взрослых пациентов, сходство баллов по MCS, наблюдаемое в общей популяции и в данной исследуемой когорте на исходном уровне, позволяет предположить, что SF-36v2 не может быть точным показателем психического самочувствия у пациентов с HPP.

Негативное воздействие боли на HRQoL хорошо известно. Все пациенты, включенные в данное исследование, испытывали боль; однако, хотя медианная интенсивность боли, регистрируемая в когорте, значимо уменьшалась через 6 месяцев лечения асфотазой альфа, интенсивность боли снова возрастала через 12 месяцев лечения. Учитывая, что в данный период времени наблюдали заметные улучшения физической функции, возможно, что это связано с тем, что пациенты стали более активными в ходе их лечения. 5-летнее исследование эффективности асфотазы альфа у пациентов взрослого и подросткового возраста с НРР обнаружило, что после 5 лет лечения наблюдалось большее снижение уровней боли; следовательно, также возможно, что период последующего наблюдения в данном промежуточном анализе был слишком коротким, чтобы наблюдать какое-либо значимое уменьшение боли.

Восприятие пациентом общей боли также может меняться со временем, и данный инструмент оценки может

быть недостаточно специфичным для наблюдения за последовательными изменениями связанной с НРР боли у взрослых.

В настоящем исследовании регистрировали схожую частоту АЕ и связанных с безопасностью явлений, как и в клинических испытаниях, в которых асфотаза альфа хорошо переносилась; по результатам данного исследования не возникло никаких новых сигналов, связанных с безопасностью. Реакции в месте инъекции, особенно покраснение и болезненность в местах инъекции, судя по всему, являются довольно распространенными. Кроме того, распространенными являются и изменения мягких тканей в местах инъекции в живот, в том числе липодистрофия с провисанием кожи, напоминающая липогипертрофию, и судя по всему, к их развитию склонны женщины с обширной жировой тканью в области живота.

В совокупности данные результаты свидетельствуют о том, что асфотаза альфа

является эффективным средством лечения для улучшения физического функционирования и HRQoL у взрослых пациентов с HPP, и демонстрируют благоприятный профиль безопасности.

Некоторые из оценок физической функции и HRQoL, примененных в данном исследовании, были рекомендованы для наблюдения лечения взрослых пациентов с НРР, в том числе 6MWT и SF-36v2. Результаты данного исследования свидетельствуют о том, что конкретные показатели физической функции и HRQoL, применяемые в данном анализе, в том числе 6MWT, тест TUG, тест повторного подъема со стула из SPPB, LEFS и компонента PCS из SF-36v2, могут и должны быть применены для измерения эффективности асфотазы альфа, некоторые уже через три месяца после начала лечения. Среди данных оценок в случае LEFS наблюдали наибольшее процентное улучшение в интервале от исходного уровня до 12 месяцев лечения в данной популяции пациентов, что указывает на то, что LEFS может быть наиболее подходящей шкалой для оценки эффективности лечения в отношении функциональных показателей у взрослых пациентов. Данные тесты лечащим врачам следует рассматривать как часть стандартной практики для наблюдения раннего ответа на лечение у взрослых с НРР, особенно потому, что они практичны и просты в реализации в клинических условиях с минимальным техническим оборудованием и обучением. Данные показатели также могут быть полезны для наблюдения долгосрочной эффективности лечения, например, для наблюдения пациентов, получающих лечение в течение более 12 месяцев.

В дополнение к этим данным о валидированных оценках физической функции и HRQoL, все 14 пациентов, включенных в данное исследование, в частности, имели в анамнезе сведения о патологических изменениях зубов. Это подчеркивает важность хороших стоматологических сетей в сообществах для обеспечения того, что заболевания метаболизма костной ткани (в том числе HPP) будут распознаваться на ранней стадии и может быть реализовано надлежащее последующее лечение. Такой подход особенно важен с учетом того, что стоматологи зачастую могут быть одними из первых медицинских работников на клиническом пути пациентов с HPP и другими заболеваниями метаболизма костной ткани.

Кроме того, у 53% пациентов, включенных в данное исследование, была мутация с.571G>А гена *ALPL*. Хотя тщательная оценка семейного анамнеза не выявляла родства между участниками, этого нельзя было исключить, поскольку не применяли подход с гаплотипированием. Тем не менее, было обнаружено, что схожая доля индивидуумов (55%) несет данную мутацию в сопоставимой когорте с HPP, что подтверждает, что данная мутация распространена среди пациентов европейского происхождения с HPP. Данные результаты являются отправной точкой для того, как отслеживать лечение данных пациентов, в частности, что можно ожидать в отношении эффективности лечения и клинического улучшения, и на чем следует сосредоточиться, чтобы снизить нежелательные явления.

#### Заключение

Эти данные из реальной когорты взрослых пациентов с HPP с началом в детском возрасте позволяют предположить, что асфотаза альфа может быть эффективна при улучшении физического функционирования и HRQoL, а также детализируют актуальность и пригодность конкретных практических инструментов оценки, в том числе 6МWT, компонента SPPB, представляющего собой тест повторного подъема со стула, теста TUG, LEFS и компонента PCS SF-36v2 для оценки эффективности асфотазы альфа и наблюдения улучшений у пациентов с течением времени.

В ходе 30-месячного анализа данного неинтервенционного исследования оценивали данные о стандартном применении асфотазы альфа у пациентов с НРР с началом в детском возрасте в стандартной клинической практике. В данных результатах клинического испытания отмечали эффективность и безопасность.

Данное исследования позволяет предположить, что у пациентов, которых подвергали лечению асфотазой альфа, наблюдалось улучшение физического функционирования (6МWT, скорость в тесте ходьбы на 4 метра, тест подъема со стула, TUG, сила хвата доминирующей рукой). Также имело место улучшение QoL, измеряемое с помощью опросника SF36 и LEFS, которое было статистически значимым. Более того, снижались уровни боли и потребление анальгетиков. Наконец, отмечали, что у большинства пациентов доза асфотазы альфа может быть снижена.

В целом, результаты тестов физического функционирования, а также опросников QoL свидетельствуют об эффективности лечения. Более того, данные инструменты оценки также можно применять для определения сроков проведения лечения, например, когда необходимо лечение или когда необходимо модифицировать режимы лечения для улучшения эффекта или снижения дозы средства лечения без утраты улучшения.

# Пример 11. Наблюдение лечения взрослого пациента с HPP с болью в нижних конечностях

У взрослого субъекта мужского пола имели место повышенная концентрация неорганического пирофосфата (PPi), составляющая приблизительно 5,82 мкМ, средний балл по силе в ВОТ-2, составляющий менее 10, и балл по тесту TUG, составляющий приблизительно 14,4. Субъекту 46 лет, и он испытывает боль в нижних конечностях и нарушение походки. Субъекту может быть поставлен диагноз НРР, и он может быть выбрана для лечения. Субъект может быть подвергнут рентгенологическому исследованию и тесту на минеральную плотность кости, оба из которых могли продемонстрировать уменьшенную минерализацию костной ткани в ногах.

Фармацевтический состав, содержащий полипептид под SEQ ID NO: 1, может быть составлен с концентрацией 0,1 мг/мл. Состав можно вводить подкожно субъекту раз в неделю в течение 12 недель в дозировке, составляющей 6 мг/кг/неделя. Субъекта можно оценивать в отношении эффективности лечения спустя 12 недель режима лечения. Субъект может заметить уменьшение боли в костях и нормализацию походки. Субъекта можно подвергнуть последующим рентгенологическим исследованиям и тестам на минеральную плотность кости, которые могут продемонстрировать нормализацию минерализации

костной ткани относительно ситуации до лечения. Концентрация PPi у субъекта могла снижаться до ниже 5 мкМ, его балл по силе в BOT-2 мог улучшаться до 12, а его балл по тесту TUG мог уменьшаться до 11,3, что свидетельствовало о лечебном эффекте, полученном с использованием полипептида. Затем субъект прекращает лечение или, альтернативно, получает лечение, если и когда снова возникают симптомы.

# Другие варианты осуществления

Предшествующее подробное описание и примеры даны только для ясности понимания. На их основе не следует делать неоправданных заключений о каких-либо ограничениях. Настоящее изобретение не ограничено представленными и описанными подробными данными, поскольку в настоящее изобретение, определенное пунктами формулы изобретения, включены вариации, очевидные специалисту в данной области техники.

Если не указано иное, все числа, выражающие количества компонентов, значения молекулярной массы и т. д., используемые в настоящем описании и формуле изобретения, следует понимать как модифицированные во всех случаях термином "приблизительно". Соответственно, если не указано иное, численные параметры, изложенные в описании и формуле изобретения, являются приближенными значениями, которые могут варьировать в зависимости от требуемых свойств, которые необходимо достичь с помощью настоящего изобретения. Как минимум, и не как попытка ограничить доктрину эквивалентов объемом пунктов формулы изобретения, каждый числовой параметр следует по меньшей мере истолковывать в свете количества сообщаемых значащих цифр и с применением стандартных методик округления.

Несмотря на то, что числовые диапазоны и параметры, определяющие широкий объем настоящее изобретения, являются приближенными значениями, числовые значения, указанные в конкретных примерах, представлены настолько точно, насколько это возможно. Тем не менее, все числовые значения по определению предусматривают диапазон, который неизбежно получают в результате стандартного отклонения, определенного при их соответствующих измерениях в ходе тестирования.

Полные раскрытия всех патентов, патентных заявок, в том числе предварительных патентных заявок, публикаций, в том числе патентных публикаций и непатентных публикаций, а также доступных в электронном виде материалов (в том числе, например, представленные нуклеотидные последовательности, например, в GenBank и RefSeq, и представленные аминокислотные последовательности в, например, SwissProt, PIR, PRF, PDB, и транслированные последовательности из аннотированных кодирующих областей в GenBank и RefSeq), упомянутые в данном документе, включены посредством ссылки. Предшествующее подробное описание и примеры даны только для ясности понимания. На их основе не следует делать неоправданных заключений о каких-либо ограничениях. Настоящее изобретение не ограничено представленными и описанными подробными данными, поскольку в варианты осуществления, определенные пунктами формулы изобретения, включены вариации, очевидные специалисту в данной области техники.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

- 1. Способ лечения нарушения минерализации костной ткани у субъекта-человека, где у субъекта наблюдается уровень по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани, который позволяет определить субъекта как нуждающегося в лечении по поводу нарушения минерализации костной ткани, при этом способ включает:
- (а) введение по меньшей мере одной дозы растворимой щелочной фосфатазы (sALP) субъекту в первой фазе лечения режима лечения;
- (b) наблюдение субъекта во время первой фазы лечения на предмет изменений по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани и
- (c) выявление улучшения по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани выше предварительно определенного порога метрического показателя и вхождение в первую фазу без лечения режима лечения, во время которой субъекту не вводят sALP.
  - 2. Способ по п. 1, дополнительно включающий:
- (d) наблюдение субъекта во время первой фазы без лечения в течение некоторого периода времени на предмет изменений по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани;
- (e) выявление уровня по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани ниже предварительно определенного порога метрического показателя;
- (f) введение по меньшей мере одной дозы sALP субъекту во второй фазе лечения режима лечения и
  - (g) повторение стадий (a) (f) один или несколько раз.
  - 3. Способ по п. 1 или п. 2, где субъект представляет собой взрослого.
- 4. Способ по любому из пп. 1-3, где нарушение минерализации костной ткани представляет собой дефицит щелочной фосфатазы.
- 5. Способ по п. 4, где дефицит щелочной фосфатазы представляет собой гипофосфатазию (НРР).
  - 6. Способ по п. 5, где НРР представляет собой НРР с началом в юношеском возрасте.
  - 7. Способ по п. 5 или п. 6, где у субъекта ранее не была диагностирована НРР.
- 8. Способ по п. 5 или п. 6, где у субъекта не была диагностирована HPP до взрослого возраста.
  - 9. Способ по любому из пп. 1-8, где субъекту ранее не вводили sALP.
- 10. Способ по любому из пп. 1-9, где способ позволяет лечить или снизить риск перелома кости у субъекта.
- 11. Способ по любому из пп. 1-10, где щелочная фосфатаза представляет собой тканенеспецифическую щелочную фосфатазу, плацентарную щелочную фосфатазу,

кишечную щелочную фосфатазу, сконструированную щелочную фосфатазу, слитый белок, содержащий фрагмент щелочной фосфатазы, или химерную щелочную фосфатазу.

- 12. Способ по любому из пп. 1-11, где щелочная фосфатаза содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90%, 95%, 97% или 99% идентичностью последовательности с последовательностью под SEQ ID NO: 1.
- 13. Способ по п. 12, где щелочная фосфатаза содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1.
- 14. Способ по п. 13, где щелочная фосфатаза состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 1.
- 15. Способ по любому из пп. 1-14, где биохимический метрический показатель выбран из группы, состоящей из уровней в плазме крови пирофосфата (PPi), пиридоксил-5'-фосфата (PLP), фосфоэтаноламина (PEA) и щелочной фосфатазы (ALP).
- 16. Способ по любому из пп. 1-15, где метрический показатель качества жизни выбран из группы, состоящей из пятипараметрического опросника EuroQol (EQ-5D), опросного листа состояния здоровья ребенка (CHAQ), инструмента для сбора данных о результатах у детей (PODCI), индекса оценки общего состояния здоровья ребенка -9D (CHU-9D), инструментальной шкалы для оценки качества жизни у детей (PedsQL), шкалы оценки функций нижних конечностей (LEFS), краткой формы опросника состояния здоровья 36 (SF-36) и краткой формы опросника состояния здоровья 12 (SF-12).
- 17. Способ по любому из пп. 1-16, где физический метрический показатель выбран из группы, состоящей из теста шестиминутной ходьбы (6МWT), теста двигательных навыков Бруининкса-Озерецкого 2-го издания (ВОТ-2), шкалы Бейли для оценки развития младенцев и детей дошкольного возраста 3-го издания (ВSID-III), шкалы оценки мышечной силы, теста на ручном динамометре (ННD), шкал оценки моторного развития Peabody 2-го издания (PDMS-2), анализа походки, краткой батареи тестов физического функционирования (SPPB) и временного теста "встань и иди" (TUG).
  - 18. Способ по п. 17, где SPPB включает тест повторного вставания со стула.
- 19. Способ по любому из пп. 1-18, где физический метрический показатель контролируют с применением нательного устройства.
  - 20. Способ по п. 19, где нательное устройство предусматривает акселерометр.
- 21. Способ по п. 19 или п. 20, где нательное устройство выполнено с возможностью ношения на руке, ноге или туловище субъекта.
- 22. Способ по п. 21, где нательное устройство выполнено с возможностью ношения на запястье субъекта.
- 23. Способ по любому из пп. 19-22, где нательное устройство отслеживает одно или несколько биометрических показаний.
- 24. Способ по п. 23, где одно или несколько биометрических показаний выбраны из числа шагов в день, средней частоты сердечных сокращений, наивысшей частоты сердечных сокращений, числового значения количества физической активности, среднего

количества времени, проведенного на различных уровнях активности, соотношения различных уровней активности, продолжительности различных уровней активности и продолжительности общего времени сна.

- 25. Способ по п. 24, где различные уровни активности выбраны из малоподвижного, легкого, умеренного и энергичного.
- 26. Способ по любому из пп. 19-25, где физический метрический показатель контролируют с применением нательного устройства в течение периода, составляющего по меньшей мере две недели, во время стадии (b).
- 27. Способ по любому из пп. 1-26, где на стадии (c) субъекту не вводят sALP в течение периода, составляющего по меньшей мере 1 месяц.
- 28. Способ по п. 27, где на стадии (c) субъекту не вводят sALP в течение периода, составляющего по меньшей мере 6 месяцев.
- 29. Способ по п. 28, где на стадии (c) субъекту не вводят sALP в течение периода, составляющего по меньшей мере 1 год.
- 30. Способ по любому из пп. 1-29, где sALP вводят в дозировке, составляющей от приблизительно 1 мг/кг/неделя до приблизительно 12 мг/кг/неделя.
- 31. Способ по п. 30, где sALP вводят в дозировке, составляющей от приблизительно 2 мг/кг/неделя до приблизительно 9 мг/кг/неделя.
- 32. Способ по п. 31, где sALP вводят в дозировке, составляющей от приблизительно 2,5 мг/кг/неделя до приблизительно 6 мг/кг/неделя.
- 33. Способ по п. 32, где sALP вводят в дозировке, составляющей приблизительно 2,6 мг/кг/неделя, 3,6 мг/кг/неделя или приблизительно 6 мг/кг/неделя.
- 34. Способ по п. 33, где sALP вводят в дозировке, составляющей приблизительно 6 мг/кг/неделя, и затем дозировку снижают до значения, составляющего приблизительно 3,6 мг/кг/неделя.
- 35. Способ по п. 34, где sALP вводят в дозировке, составляющей приблизительно 6 мг/кг/неделя, в течение приблизительно 12 недель, и затем дозировку снижают до значения, составляющего приблизительно 3,6 мг/кг/неделя, в течение приблизительно 24 недель.
- 36. Способ по любому из пп. 10-35, где способ приводит в результате к увеличению регенерации костной ткани, что приводит в результате к образованию новой костной ткани в контрольной точке у субъекта по сравнению с контрольной точкой у субъекта до лечения.
- 37. Способ по п. 36, где увеличение регенерации костной ткани представляет собой увеличение непрозрачности.
- 38. Способ по п. 37, где увеличение непрозрачности определяют с помощью рентгенографии или компьютерной томографии (СТ).
- 39. Способ по любому из пп. 36-38, где увеличение регенерации костной ткани происходит между двумя частями кости, которые были разделены переломом.
- 40. Способ по любому из пп. 10-39, где способ приводит в результате к среднему изменению минеральной плотности кости в контрольной точке, которое не поддается выявлению или не превышает 0.01% через восемь месяцев после введения sALP по

сравнению с минеральной плотностью кости в контрольной точке у субъекта до лечения.

- 41. Способ по любому из пп. 1-40, дополнительно включающий лечение субъекта с помощью хирургического вмешательства.
- 42. Способ по п. 41, где хирургическое вмешательство включает одно или несколько из артродеза, удаления кости, установки материала костного трансплантата и установки металлоконструкции.
- 43. Способ по п. 42, где металлоконструкция представляет собой винт, стержень, пластину, металлический каркас, гвоздь, штифт или гайку.
- 44. Способ по любому из пп. 41-43, где по меньшей мере одно хирургическое вмешательство выбрано из группы, состоящей из артроскопии колена, плеча, бедра, лодыжки, локтя или запястья, перелома и менискэктомии, артроскопии и декомпрессии плеча, освобождения запястного канала, артроскопии и хондропластики коленного сустава, удаления опорного имплантата, артроскопии коленного сустава и реконструкции передней крестообразной связки, замены коленного сустава, восстановления после перелома шейки бедра, восстановления после атипичного перелома бедра, восстановления после вертельного перелома, дебридмента кожи/мышцы/кости/перелома, восстановления одного или обоих менисков после артроскопии коленного сустава, замены тазобедренного сустава, артроскопии плеча/резекции дистального отдела ключицы, восстановления сухожилия ротаторной манжеты плеча, восстановления после перелома лучевой или локтевой кости, ламинэктомии, восстановления после перелома лодыжки (двулодыжечного типа), артроскопии и дебридмента плеча, спондилодеза поясничного отдела позвоночника, восстановления после перелома дистальной части лучевой кости, межпозвонкового диска в нижней части спины, рассечения сухожильного влагалища пальца, восстановления после перелома лодыжки (малоберцовой кости), восстановления после перелома тела бедренной кости и восстановления после вертельного перелома.
  - 45. Способ по любому из пп. 1-44, где sALP вводят раз в день или раз в неделю.
- 46. Способ по любому из пп. 1-45, где sALP вводят два раза в неделю, три раза в неделю, четыре раза в неделю, пять раз в неделю, шесть раз в неделю или семь раз в неделю.
- 47. Способ по любому из пп. 1-46, где во время стадии (а) sALP вводят в течение периода лечения, составляющего по меньшей мере один месяц, по меньшей мере два месяца, по меньшей мере три месяца, по меньшей мере четыре месяца, по меньшей мере пять месяцев, по меньшей мере шесть месяцев, по меньшей мере семь месяцев, по меньшей мере восемь месяцев, по меньшей мере девять месяцев, по меньшей мере десять месяцев, по меньшей мере 11 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев или дольше.
- 48. Способ по любому из пп. 1-47, где sALP составляют в фармацевтической композиции с по меньшей мере одним фармацевтически приемлемым носителем.
- 49. Способ по п. 48, где по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель содержит солевой раствор.
- 50. Способ по п. 49, где по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель содержит хлорид натрия и фосфат натрия.

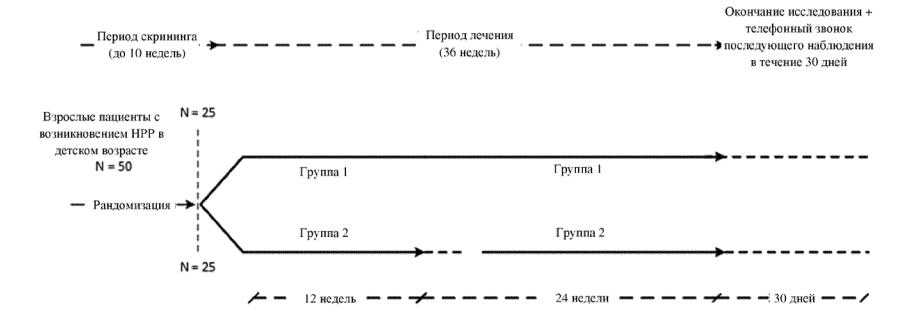
- 51. Способ по п. 50, где по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель содержит 150 мМ хлорида натрия и 25 мМ фосфата натрия.
- 52. Способ по любому из пп. 48-51, где фармацевтическую композицию вводят подкожно, внутримышечно, внутривенно, перорально, назально, подъязычно, интратекально или внутрикожно.
  - 53. Способ по п. 52, где фармацевтическую композицию вводят подкожно.
- 54. Способ по любому из пп. 1-53, где способ приводит в результате к среднему увеличению балла по скорости бега и ловкости в тесте двигательных навыков Бруининкса-Озерецкого 2-го издания (ВОТ-2) до приблизительно 9 или более чем приблизительно 9.
- 55. Способ по п. 54, где медианный общий балл по скорости бега и ловкости в ВОТ-2 у субъекта определяют относительно медианного общего балла по скорости бега и ловкости в ВОТ-2 у не подвергавшегося лечению субъекта с НРР.
- 56. Способ по п. 54 или п. 55, где медианный общий балл по скорости бега и ловкости в ВОТ-2 у субъекта определяют по результатам измерений, выбранных из группы, состоящей из перешагивания через гимнастическое бревно, челночного бега, бокового прыжка на двух ногах и бокового прыжка на одной ноге.
- 57. Способ по любому из пп. 17-56, где способ приводит в результате к среднему увеличению балла по силе в ВОТ-2 до приблизительно 18 или более чем приблизительно 18.
- 58. Способ по п. 57, где медианный общий балл по силе в ВОТ-2 у субъекта определяют относительно медианного общего балла по силе в ВОТ-2 у не подвергавшегося лечению субъекта с НРР.
- 59. Способ по п. 57 или п. 58, где медианный общий балл по силе в ВОТ-2 у субъекта определяют относительно медианного общего балла по силе в ВОТ-2 у здорового субъекта.
- 60. Способ по любому из пп. 57-59, где медианный общий балл по силе в ВОТ-2 у субъекта определяют по результатам измерений, выбранных из группы, состоящей из приседаний, V-образных скручиваний лежа, прыжка в длину с места, приседания у стены и отжиманий.
- 61. Способ по любому из пп. 1-60, где способ приводит в результате к улучшению способности ходить относительно способности ходить у субъекта, выбранного из группы, состоящей из здорового субъекта и не подвергавшегося лечению субъекта с HPP.
- 62. Способ по любому из пп. 1-61, где субъект демонстрирует уменьшение зависимости от вспомогательного устройства для передвижения после введения sALP.
- 63. Способ по п. 62, где вспомогательное устройство для передвижения выбрано из группы, состоящей из кресла-коляски, фиксирующих устройств, костылей и ортопедических аппаратов.
- 64. Способ по любому из пп. 1-63, где способ приводит в результате к среднему уменьшению концентрации неорганического пирофосфата (PPi) в образце плазмы крови от субъекта относительно значений концентрации PPi в образце плазмы крови от не подвергавшегося лечению субъекта с HPP.

- 65. Способ по любому из пп. 1-64, где способ приводит в результате к среднему уменьшению концентрации пиридоксаль-5'-фосфата (PLP) в образце плазмы крови от субъекта относительно значений концентрации PLP в образце плазмы крови от не подвергавшегося лечению субъекта с HPP.
- 66. Способ по любому из пп. 1-65, где способ приводит в результате к среднему увеличению концентрации щелочной фосфатазы в образце плазмы крови от субъекта относительно концентрации щелочной фосфатазы в образце плазмы крови от не подвергавшегося лечению субъекта с НРР.
  - 67. Набор, содержащий нательное устройство и sALP.
  - 68. Набор по п. 67, где нательное устройство предусматривает акселерометр.
- 69. Набор по п. 67 или п. 68, где нательное устройство выполнено с возможностью ношения на запястье субъекта.
- 70. Набор по любому из пп. 67-69, дополнительно содержащий периферийное устройство.
  - 71. Набор по п. 70, где периферийное устройство представляет собой смартфон.
- 72. Набор по п. 70 или п. 71, где периферийное устройство выполнено с возможностью запуска программного приложения.
- 73. Способ лечения атипичного перелома бедренной кости (AFF) у субъектачеловека, включающий назначение субъекту режима лечения, предусматривающего по меньшей мере одну дозу sALP.
- 74. Способ по п. 73, где sALP вводят в количестве и в течение времени, которые являются достаточными для восстановления после AFF.
- 75. Способ по любому из п. 73 или п. 74, где у субъекта наблюдается уровень по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани, который позволяет определить субъекта как нуждающегося в лечении AFF.
- 76. Способ по п. 75, дополнительно включающий наблюдение субъекта во время лечения на предмет изменений по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани.
- 77. Способ по п. 76, дополнительно включающий выявление улучшения по меньшей мере одного биохимического, физического метрического показателя, метрического показателя качества жизни или костной ткани выше предварительно определенного порога метрического показателя и вхождение в фазу без лечения режима лечения, во время которой субъекту не вводят sALP.
- 78. Способ по любому из пп. 73-77, где у субъекта имеется нарушение минерализации костной ткани.
- 79. Способ по п. 75, где нарушение минерализации костной ткани представляет собой дефицит щелочной фосфатазы.
  - 80. Способ по п. 79, где дефицит щелочной фосфатазы представляет собой НРР.
  - 81. Способ по п. 80, где НРР представляет собой НРР с началом в юношеском

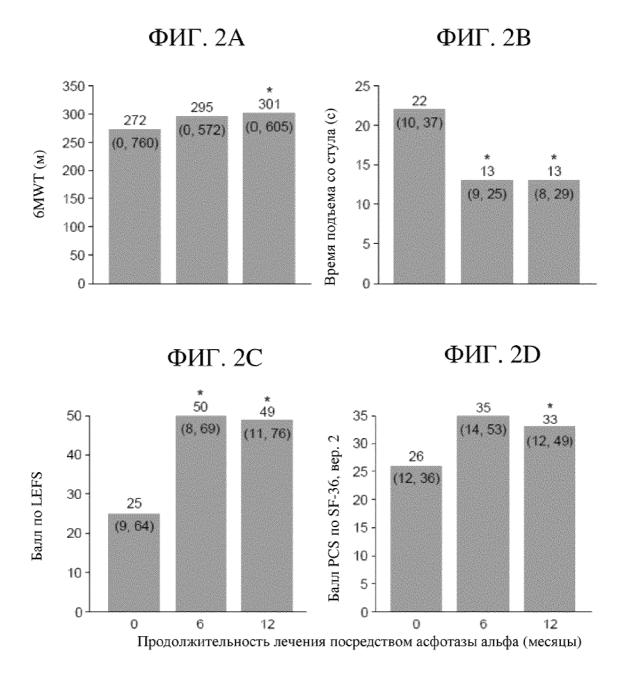
возрасте.

- 82. Способ по п. 80 или п. 81, где у субъекта ранее не была диагностирована НРР.
- 83. Способ по п. 80 или п. 81, где у субъекта не была диагностирована НРР до взрослого возраста.
- 84. Способ по любому из пп. 73-77, где у субъекта не имеется нарушения минерализации костной ткани.
- 85. Способ по любому из пп. 73-84, где субъекту ранее вводили или в настоящее время вводят бисфосфонат.
- 86. Способ по любому из пп. 73-85, где дозу определяют на основе фактического веса тела субъекта.
- 87. Способ по любому из пп. 73-85, где дозу определяют на основе идеального веса тела субъекта.
- 88. Способ по любому из пп. 1-66, где дозу определяют на основе фактического веса тела субъекта.
- 89. Способ по любому из пп. 1-66, где дозу определяют на основе идеального веса тела субъекта.

По доверенности

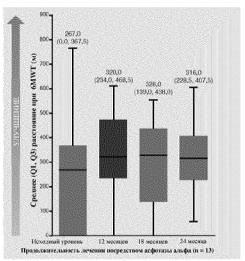


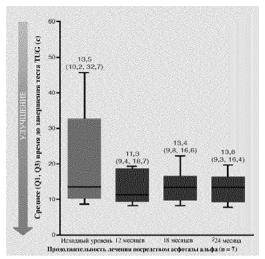
ФИГ. 1



ФИГ. ЗА

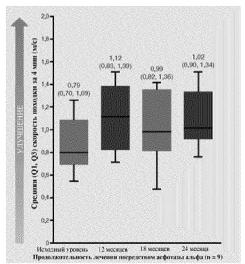
ФИГ. 3В

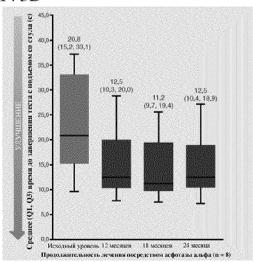




ФИГ. 3С

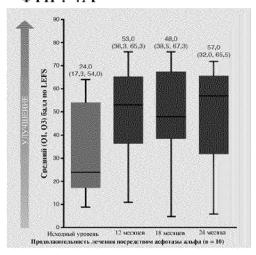
ФИГ. 3D



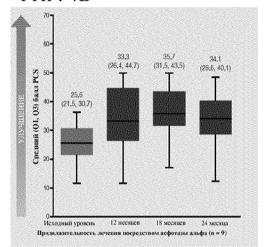


3/14

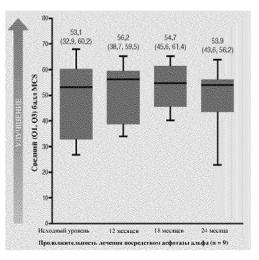
ФИГ. 4А



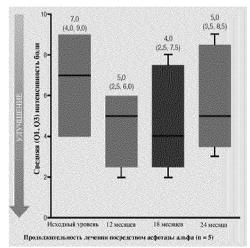
ФИГ. 4В



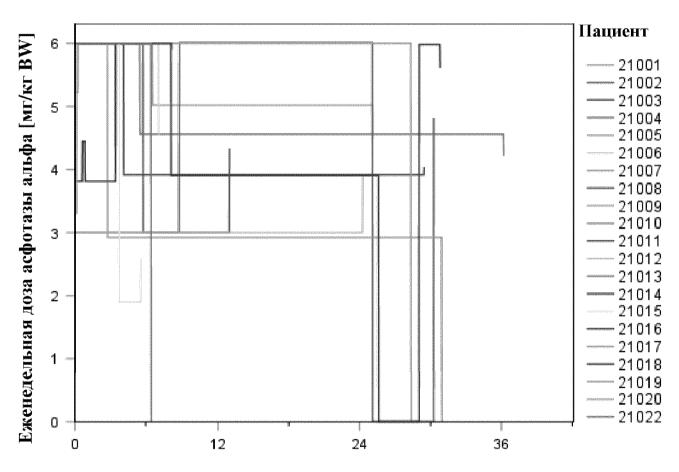
ФИГ. 4С



ФИГ. 4D



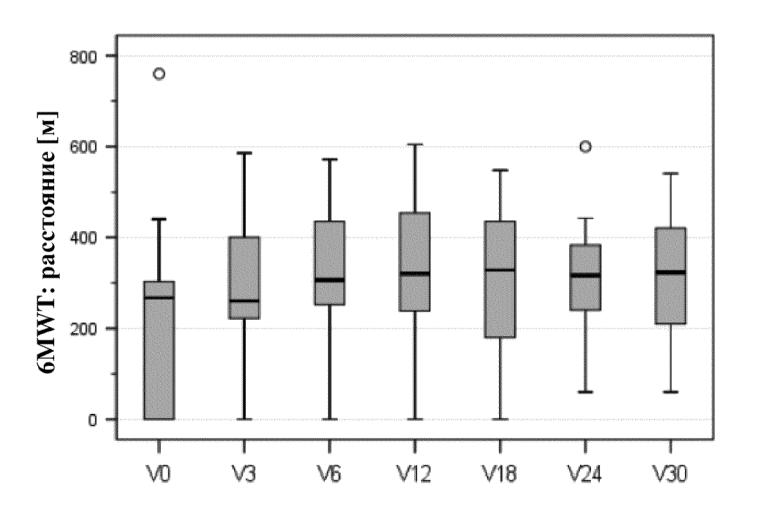


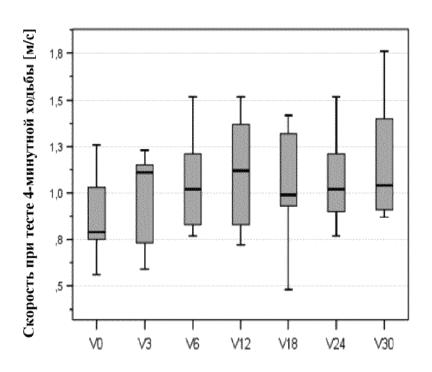


Месяцы после начала терапии



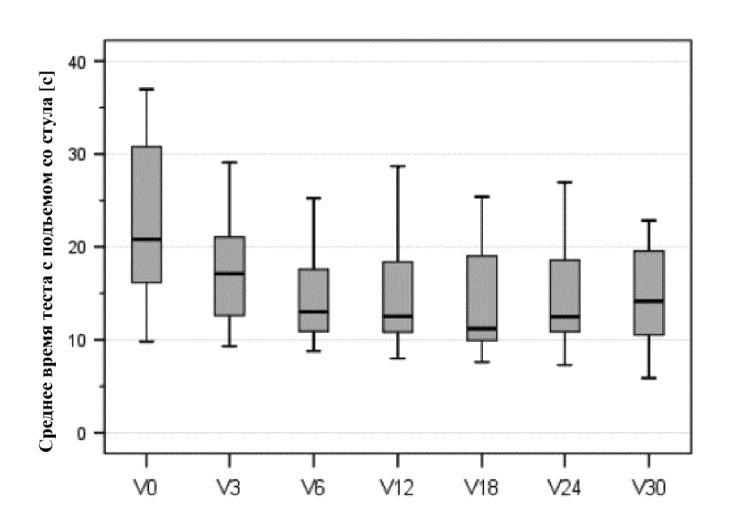




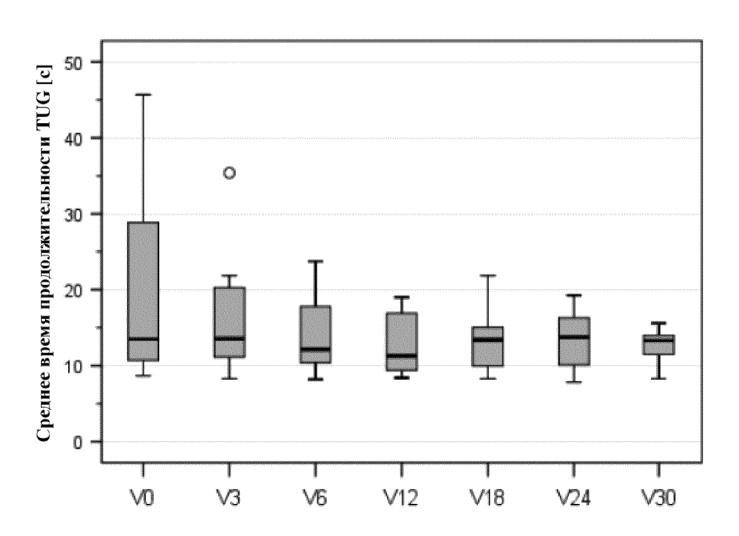


8/14

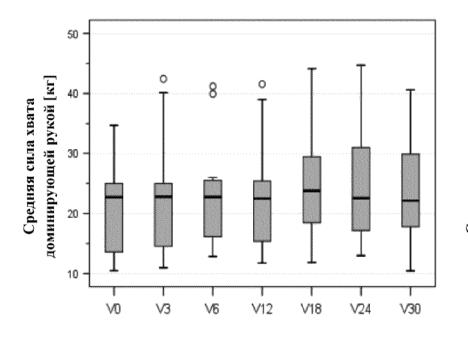


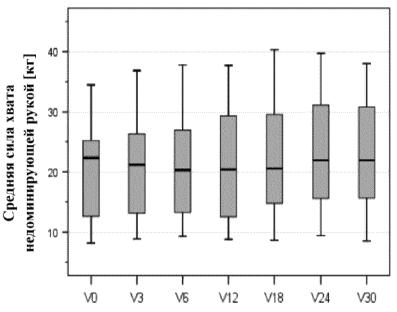


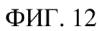
ФИГ. 10

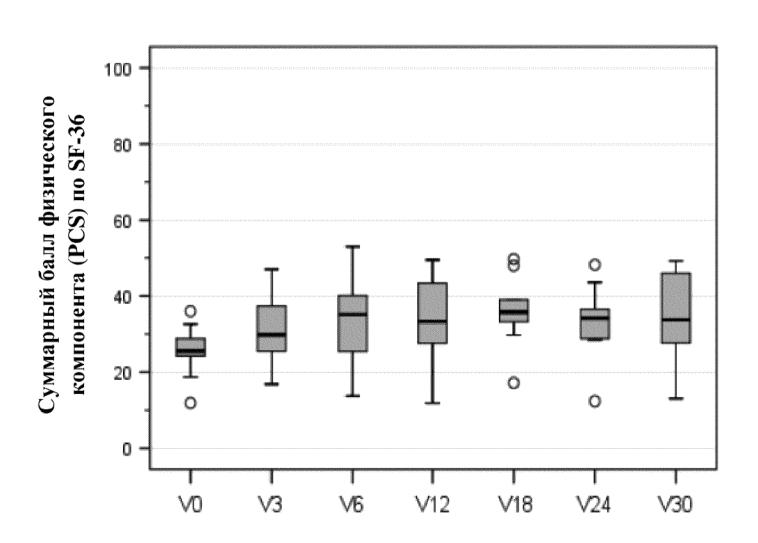


ФИГ. 11А ФИГ. 11В

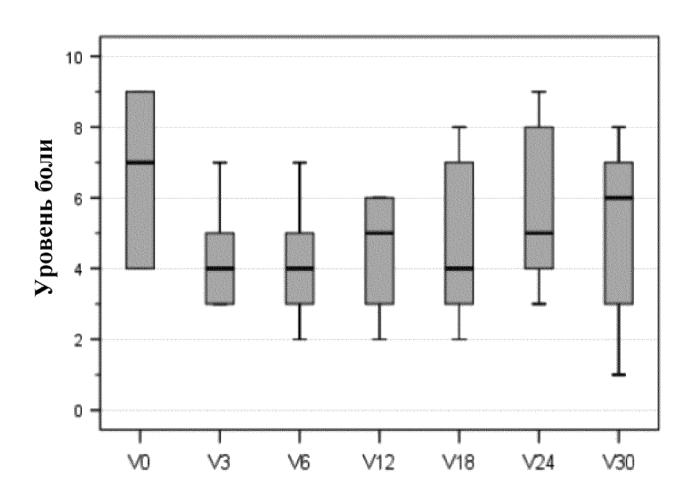








ФИГ. 13



ФИГ. 14

