

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **046688**

(13) **B1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2024.04.10**

**(21)** Номер заявки  
**201792099**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2012.12.21**

**(51)** Int. Cl. *A61K 9/08* (2006.01)  
*A61K 38/46* (2006.01)  
*A61P 3/00* (2006.01)

---

**(54) ЛЕЧЕНИЕ КОГНИТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ СИНДРОМЕ ХАНТЕРА ПУТЕМ  
ИНТРАТЕКАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ ИДУРОНАТ-2-СУЛЬФАТАЗЫ**

---

**(31)** 61/580,027; 61/590,797; 61/590,804;  
61/609,173; 61/734,365

**(32)** 2011.12.23; 2012.01.25; 2012.01.25;  
2012.03.09; 2012.12.06

**(33)** US

**(43)** 2018.05.31

**(62)** 201491047; 2012.12.21

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**ТАКЕДА ФАРМАСЬЮТИКАЛ  
КОМПАНИ ЛИМИТЕД (JP)**

**(72)** Изобретатель:  
**Барбиер Энн, Макколи Томас, Ричард  
Чарльз В. III (US)**

**(74)** Представитель:  
**Нилова М.И. (RU)**

**(56)** BRIAN R. FELICE et al. Safety Evaluation of Chronic Intrathecal Administration of Idursulfase-IT in Cynomolgus Monkeys. Toxicologic Pathology, 31 May 2011, 39, pp.879-892, особенно реферат, сс. 879-880, 883-884

WO-A2-2005021064

WO-A2-2005002515

S JAHNSON et al. Randomised trial of parental support for families with very preterm children: outcome at 5 years. Arch Dis Child., 2005; 90: pp. 909-915

ALICIA J SPITTLE et al. A systematic review of the clinimetric properties of neuromotor assessments for preterm infants during the first year of life. Developmental Medicine & Child Neurology, 2008, 50: pp. 254-266, табл. 1, 3-5

---

**(57)** Изобретение обеспечивает способ лечения когнитивных нарушений при синдроме Хантера. В числе прочего, изобретение обеспечивает способ, включающий этап интратекального введения субъекту, нуждающемуся в лечении, рекомбинантного фермента идуронат-2-сульфатазы (I2S) в терапевтически эффективной дозе и с интервалом введения в течение периода лечения, достаточным для улучшения, стабилизации или ослабления снижения одной или более из когнитивных, адаптивных, моторных и/или управляющих функций по сравнению с контролем.

---

**B1**

**046688**

**046688**

**B1**

### **Родственные заявки**

Настоящее изобретение испрашивает приоритет предварительной заявки США № 61/580027, поданной 23 декабря 2011 г.; предварительной заявки США № 61/590797, поданной 25 января 2012 г.; предварительной заявки США № 61/590804, поданной 25 января 2012 г.; предварительной заявки США № 61/609173, поданной 9 марта 2012 г.; предварительной заявки США № 61/734365, поданной 6 декабря 2012 г.; описание каждой из которых включено сюда посредством ссылки.

### **Уровень техники**

Синдром Хантера, также известный как мукополисахаридоз II типа (MPS II), является лизосомной болезнью накопления, обусловленной недостаточностью фермента идуронат-2-сульфатазы (I2S). Идуронат-2-сульфатаза участвует в расщеплении и рециркуляции специфических мукополисахаридов, также известных как гликозаминогликаны или ГАГ. В результате при синдроме Хантера ГАГ накапливаются в клетках организма, что препятствует нормальному функционированию различных клеток и органов тела и приводит к ряду серьезных симптомов. Во многих случаях при синдроме Хантера часто встречаются значительные накопления ГАГ в нейронах и в мозговых оболочках больных индивидов, что приводит к различным формам симптомов со стороны ЦНС, нарушению когнитивной деятельности и задержкам развития.

Для лечения синдрома Хантера используют ферментную заместительную терапию (ERT). В одобренном способе лечения применяется внутривенное введение рекомбинантного фермента I2S. Тем не менее, фермент при внутривенном введении обычно не проходит в достаточной мере через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) в клетках и тканях ЦНС. Поэтому лечение ЦНС-симптомов синдрома Хантера является особенно сложным.

### **Сущность изобретения**

Настоящее изобретение обеспечивает эффективный способ лечения синдрома Хантера, в частности, синдрома Хантера с когнитивными нарушениями на основе интратекального введения рекомбинантного фермента идуронат-2-сульфатазы (I2S). Настоящее изобретение частично основано на первом клиническом исследовании на людях, демонстрирующем безопасность, переносимость и эффективность интратекальной доставки фермента I2S в организм пациентов с синдромом Хантера (MPS II) (например, с возраста 3-12 лет) с признаками когнитивных нарушений. Например, как описано ниже в разделе "Примеры", интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S являлось безопасным, хорошо переносилось и приводило к значительному снижению уровня ГАГ в спинномозговой жидкости (СМЖ) пациентов во всех дозогруппах, включая даже 1-мг ИТ-дозу. Во многих случаях снижение ГАГ в СМЖ проявлялось после первой ИТ-дозы фермента I2S. Поскольку уровень ГАГ в СМЖ является важным показателем фармакодинамической активности I2S в интратекальной полости, эти результаты показывают, что I2S при интратекальном введении обладает неожиданно превосходной фармакодинамической активностью в ЦНС. В соответствии с этим наблюдением, интратекальное введение I2S также приводило к стабилизации или улучшению когнитивной деятельности, в том числе нейрокогнитивных, адаптивных и/или управляющих функций у нескольких пациентов после лечения в течение 6 месяцев путем интратекального введения фермента I2S. Указанное первое клиническое исследование на людях подтверждает, что интратекальная доставка рекомбинантного фермента I2S является безопасным и эффективным способом лечения синдрома Хантера. В частности, данные о когнитивных функциях, полученные в ходе указанного первого клинического исследования на людях, показали, что интратекальную доставку фермента I2S можно применять для эффективного лечения ЦНС-симптомов синдрома Хантера, что приводит к стабилизации или улучшению когнитивной деятельности. Предполагается, что более длительное лечение больных, начинающих интратекальную терапию на ранних этапах ухудшения неврологического развития, может быть особенно эффективно при лечении когнитивных нарушений.

Таким образом, в одном аспекте настоящее изобретение обеспечивает способ лечения синдрома Хантера, включающий этап интратекального введения субъекту, нуждающемуся в лечении, рекомбинантного фермента идуронат-2-сульфатазы (I2S) в терапевтически эффективной дозе и с интервалом введения, при которых улучшается одна или более из когнитивных способностей или способностей, относящихся к развитию, по сравнению с контролем. В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение обеспечивает способ лечения синдрома Хантера, включающий этап интратекального введения субъекту, нуждающемуся в лечении, рекомбинантного фермента идуронат-2-сульфатазы (I2S) в терапевтически эффективной дозе и с интервалом введения в течение периода лечения, достаточным для улучшения, стабилизации или ослабления снижения одной или более из когнитивных, адаптивных, моторных и/или управляющих функций по сравнению с контролем. При использовании здесь, термины "улучшить", "стабилизировать" или "уменьшить" или их грамматические эквиваленты указывают на оценку или измерение когнитивных, адаптивных, моторных и/или управляющих функций (например, балльных показателей когнитивных тестов) по сравнению с исходной оценкой или измерением, например, с оценкой или измерением у того же самого индивида до начала лечения или с оценкой или измерением у контрольного индивида (или нескольких контрольных индивидов) в отсутствие лечения. "Контрольный индивид" является индивидом, страдающим синдромом Хантера, как и индивид, получающий лечение, примерно того же возраста, что и индивид, получающий лечение (для сопоставимости этапов заболевания).

ния, а также этапов возрастного развития у индивида, получавшего лечение, и контрольного индивида (индивидов)).

В некоторых вариантах воплощения терапевтически эффективная доза составляет или превышает приблизительно 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 мг. В конкретных вариантах воплощения терапевтически эффективная доза составляет или превышает приблизительно 10 мг. В конкретных вариантах воплощения терапевтически эффективная доза составляет или превышает приблизительно 30 мг. В некоторых вариантах воплощения терапевтически эффективная доза составляет менее чем приблизительно 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15 или 10 мг. В конкретных вариантах воплощения терапевтически эффективная доза составляет менее чем приблизительно 30 мг. В некоторых вариантах воплощения терапевтически эффективная доза находится в диапазоне приблизительно 1-100 мг, приблизительно 5-100 мг, приблизительно 5-90 мг, приблизительно 5-80 мг, приблизительно 5-70 мг, приблизительно 5-60 мг, приблизительно 5-60 мг, приблизительно 10-100 мг, приблизительно 10-90 мг, приблизительно 10-80 мг, приблизительно 10-70 мг, приблизительно 10-60 мг или приблизительно 10-50 мг.

В некоторых вариантах воплощения подходящая терапевтически эффективная доза, регулярно вводимая с определенным интервалом, приводит к ППК<sub>ss</sub> рекомбинантного фермента I2S в сыворотке в диапазоне от приблизительно 200000 мин нг/мл до приблизительно 1000000 мин нг/мл (например, от приблизительно 250000 мин нг/мл до приблизительно 900000 мин нг/мл, от приблизительно 300000 мин нг/мл до приблизительно 800000 мин нг/мл, от приблизительно 350000 мин нг/мл до приблизительно 700000 мин нг/мл, от приблизительно 400000 мин нг/мл до приблизительно 600000 мин нг/мл).

В некоторых вариантах воплощения подходящая терапевтически эффективная доза, регулярно вводимая с определенным интервалом, приводит к максимальной концентрации ( $C_{\text{макс}}$ ) рекомбинантного фермента I2S в сыворотке в диапазоне от приблизительно 60 до приблизительно 300 нг/мл (например, от приблизительно 70 до приблизительно 250 нг/мл, от приблизительно 70 до приблизительно 200 нг/мл, от приблизительно 70 до приблизительно 150 нг/мл, от приблизительно 80 до приблизительно 250 нг/мл, от приблизительно 80 до приблизительно 200 нг/мл, от приблизительно 80 до приблизительно 150 нг/мл, от приблизительно 90 до приблизительно 250 нг/мл, от приблизительно 90 до приблизительно 200 нг/мл, от приблизительно 90 до приблизительно 150 нг/мл).

В некоторых вариантах воплощения подходящий интервал введения составляет раз в неделю, раз в две недели, два раза в месяц, раз в три недели, раз в месяц, раз в два месяца, раз в три месяца, раз в четыре месяца, раз в пять месяцев, раз в шесть месяцев, два раза в год, раз в год или является переменным интервалом. При использовании здесь, фраза "раз в месяц" является эквивалентом "раз в четыре недели".

В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение выполняют посредством люмбальной пункции. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение выполняют посредством резервуара Оммаи. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение осуществляют посредством периодического или непрерывного доступа к имплантированному устройству интратекальной доставки лекарственных препаратов (IDDD). В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение осуществляют посредством непрерывного доступа к имплантированному IDDD, например, в течение более чем 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5 или 5,0 ч.

В некоторых вариантах воплощения период лечения составляет по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18, 24 или более месяцев. В некоторых вариантах воплощения период лечения составляет по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более лет. В некоторых вариантах воплощения период лечения продолжается в течение всей жизни субъекта, подвергаемого лечению.

В некоторых вариантах воплощения одну или более когнитивных, адаптивных, моторных и/или управляющих функций оценивают по второму изданию шкал дифференциальных способностей (DAS-II). В некоторых вариантах воплощения оценка DAS-II является исходной оценкой, кластерной оценкой, стандартизированной оценкой, процентильным возрастным эквивалентом или коэффициентом развития. В некоторых вариантах воплощения оценка DAS-II является балльным показателем общей концептуальной способности (GCA). В некоторых вариантах воплощения одну или более когнитивных, адаптивных, моторных и/или управляющих функций оценивают по III версии шкал Бейли для оценки раннего развития детей (BSID-III).

В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к улучшению показателя GCA или фактора развития BSID-III (DQ) по сравнению с контролем (например, исходным показателем до лечения). В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S улучшает показатель GCA или фактор развития BSID-III приблизительно на 5, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30 баллов или более по сравнению с контролем (например, исходным показателем до лечения). В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S улучшает показатель GCA или фактор развития BSID-III приблизительно на 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50% или более по сравнению с контролем (например, исходным показателем до лечения). В некоторых вариантах воплощения улучшенный показатель GCA или фактор развития BSID-III находится в диапазоне 85-105, в диапазоне приблизительно 70-105 (например, приблизительно 75-105, 75-100, 70-100, 70-95, 70-90, 75-105, 75-100, 75-95, 75-90, 80-105, 80-100, 80-95, 80-90, 85-105, 85-

100 или 85-95). В некоторых вариантах воплощения улучшенный показатель GCA или фактор развития BSID-III составляет или превышает приблизительно 70, 75, 80, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104 или 105 баллов. В некоторых вариантах воплощения показатель GCA или фактор развития BSID-III измеряют после периода лечения, который составляет или превышает 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или 18 месяцев. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S поддерживает улучшенный показатель GCA или фактор развития BSID-III в течение периода, который составляет или превышает 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 или 36 месяцев. При использовании здесь, поддержание показателя GCA или фактора развития BSID-III означает изменение показателя GCA или фактора развития BSID-III менее чем на 10, 9, 8, 7, 6 или 5 баллов в течение 3, 6, 8, 10, 12 месяцев или изменение показателя GCA или фактора развития BSID-III в течение 3, 6, 8, 10, 12 месяцев в пределах 20, 15, 10, 5% от среднего изменения за такой период. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к стабилизации показателя GCA или фактора развития BSID-III по сравнению с контролем (например, исходным показателем до лечения). В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к стабилизации показателя GCA или фактора развития BSID-III после периода лечения, который составляет или превышает 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 месяцев или 1, 2, 3, 4, 5, 10 лет, по сравнению с исходным показателем до лечения. При использовании здесь, стабилизация показателя GCA или фактора развития BSID-III означает изменение показателя GCA или фактора развития BSID-III по сравнению с исходным уровнем менее чем на 10, 9, 8, 7, 6 или 5 баллов в течение 3, 6, 8, 10, 12 месяцев или изменение показателя GCA или фактора развития BSID-III в течение 3, 6, 8, 10, 12 месяцев в пределах 20, 15, 10, 5% от среднего изменения за такой период. В некоторых случаях стабилизация показателя GCA или фактора развития BSID-III означает изменение показателя GCA или фактора развития BSID-III менее чем на 20, 15, 10, 5% по сравнению с исходным уровнем в течение 3, 6, 8, 10, 12 месяцев. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к стабилизации показателя GCA или фактора развития BSID-III после начального снижения показателя GCA или фактора развития BSID-III. Например, стабилизация может происходить после снижения показателя GCA или фактора развития BSID-III не менее чем на 40, 35, 30, 25, 20, 15 или 10% по сравнению с исходным уровнем. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S стабилизирует показатель GCA или фактор развития BSID-III на период, который составляет или превышает 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 или 36 месяцев. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S стабилизирует показатель GCA или фактор развития BSID-III на 3-36 месяцев (например, 3-33, 3-30, 3-27, 3-24, 3-21, 3-18, 3-15, 3-12, 3-9, 3-6, 6-36, 6-33, 6-30, 6-27, 6-24, 6-21, 6-18, 6-15, 6-12, 6-9 месяцев). В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к ослаблению снижения показателя GCA или фактора развития BSID-III. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к ежегодному снижению показателя GCA или фактора развития BSID-III менее чем приблизительно на 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11 или 10 баллов. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к ежегодному снижению показателя GCA или фактора развития BSID-III менее чем приблизительно на 40, 35, 30, 25, 20, 15 или 10%. В некоторых вариантах воплощения ослабленное снижение показателя GCA или фактора развития BSID-III достигается после периода лечения, который составляет или превышает 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 месяцев или 1, 2, 3, 4, 5, 10 лет.

В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S дополнительно приводит к улучшению или стабилизации одной или более адаптивных функций, оцениваемых по пересмотренным шкалам независимого поведения (SIB-R). В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S дополнительно приводит к улучшению или стабилизации одной или более управляющих функций, оцениваемых по опроснику поведенческой оценки управляющих функций (Behavior Rating Inventory of Executive Function®, BRIEF®).

Настоящее изобретение можно применять для лечения субъектов различного возраста. В некоторых вариантах воплощения возраст субъекта, подвергаемого лечению, составляет по меньшей мере 6 месяцев, 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, 2 года, 2,5 года, 3 года, 3,5 года, 4 года, 4,5 года или 5 лет. В некоторых вариантах воплощения субъекту, подвергаемому лечению, меньше 5, 4,5, 4, 3,5, 3, 2,5, 2 или 1,5 лет. В некоторых вариантах воплощения субъекту, подвергаемому лечению, меньше 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 месяца. В некоторых вариантах воплощения субъекту, подвергаемому лечению, меньше 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 дня(дней). В некоторых вариантах воплощения возраст субъекта, подвергаемого лечению, находится в диапазоне 0 месяцев - 8 лет, 3 месяца - 8 лет, 6 месяцев - 8 лет, 8 месяцев - 8 лет, 1 год - 8 лет, 3 месяца - 7 лет, 6 месяцев - 7 лет, 8 месяцев - 7 лет, 1 год - 7 лет, 3 месяца - 6 лет, 6 месяцев - 6 лет, 8 месяцев - 6 лет, 1 год - 6 лет, 3 месяца - 5 лет, 6 месяцев - 5 лет, 8 месяцев - 5 лет, 1 год - 5 лет, 3 месяца - 4 года, 6 месяцев - 4 года, 8 месяцев - 4 года, 1 год - 4 года, 3 месяца - 3 года, 6 месяцев - 3 года, 8 месяцев - 3 года, 1 год - 3 года, 3 месяца - 2 года, 6 месяцев - 2 года, 8 месяцев - 2 года или 1 год - 2 года, 3 месяца - 1 год, 6 месяцев - 1 год, или 8 месяцев - 1 год. В некоторых вариантах воплощения субъект, подвергаемый лечению, стра-

дает когнитивным нарушением. В некоторых вариантах воплощения показатель GCA или фактор развития BSID-III субъекта, подвергаемого лечению, до лечения составляет менее 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 15, 10 или не поддается проверке. В некоторых вариантах воплощения показатель GCA или фактор развития BSID-III субъекта, подвергаемого лечению, до лечения снижается менее чем на приблизительно 40, 35, 30, 25, 20, 15 или 10% по сравнению с нормальным исходным уровнем. В некоторых вариантах воплощения показатель GCA или фактор развития BSID-III субъекта, подвергаемого лечению, до лечения находится в диапазоне приблизительно 60-100 (например, приблизительно 60-95, 60-90, 60-85, 60-80, 60-75, 60-70, 70-100, 70-95, 70-90, 70-85, 70-80, 80-100, 80-95, 80-90).

В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение выполняют в сочетании с внутривенным введением рекомбинантного фермента I2S. В некоторых вариантах воплощения внутривенное введение рекомбинантного фермента I2S осуществляют раз в неделю. В некоторых вариантах воплощения внутривенное введение рекомбинантного фермента I2S осуществляют раз в неделю, за исключением недели, на которой осуществляют интратекальное введение. В некоторых вариантах воплощения внутривенное введение рекомбинантного фермента I2S осуществляют раз в две недели, раз в три недели, раз в месяц, два раза в месяц, раз в два, три, четыре, пять или шесть месяцев. В некоторых вариантах воплощения внутривенное введение рекомбинантного фермента I2S осуществляют в дозе приблизительно 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 или 1,0 мг/кг массы тела. В некоторых вариантах воплощения внутривенное введение рекомбинантного фермента I2S осуществляют в дозе приблизительно 0,5 мг/кг массы тела.

В некоторых вариантах воплощения дозу и/или интервал интратекального и/или внутривенного введения можно регулировать (например, увеличивать или уменьшать) на основании показателя GCA, BSID-III, SIB-R и/или BRIEF.

В различных вариантах воплощения интратекальное введение, согласно настоящему изобретению, не приводит к серьезным нежелательным эффектам у субъекта. В различных вариантах воплощения интратекальное введение, согласно настоящему изобретению, не требует применения иммунодепрессанта.

В конкретных вариантах воплощения настоящее изобретение обеспечивает способ лечения синдрома Хантера, включающий интратекальное введение субъекту, нуждающемуся в лечении, рекомбинантного фермента идуронат-2-сульфатазы (I2S) в первой терапевтически эффективной дозе и внутривенное введение субъекту рекомбинантного фермента I2S во второй терапевтически эффективной дозе в течение периода лечения, достаточного для улучшения, стабилизации или ослабления снижения одной или более когнитивных, адаптивных, моторных и/или управляющих функций по сравнению с контролем. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение осуществляют раз в месяц. В некоторых вариантах воплощения внутривенное введение осуществляют раз в неделю.

В еще одном аспекте настоящее изобретение обеспечивает способ лечения синдрома Хантера, включающий этап интратекального введения субъекту, нуждающемуся в лечении, рекомбинантного фермента идуронат-2-сульфатазы (I2S) в терапевтически эффективной дозе и с интервалом введения в течение периода лечения, достаточным для снижения уровня гликозаминогликана (ГАГ) в спинномозговой жидкости (СМЖ) по сравнению с контролем. При использовании здесь, термин "уменьшать" или его эквивалент, например, "снижать", или их грамматические эквиваленты указывают на измерение уровня ГАГ по сравнению с измерением исходного уровня, например, измерением у того же самого индивида до начала лечения или измерением у контрольного индивида (или нескольких контрольных индивидов) в отсутствие лечения. "Контрольный индивид" является индивидом, страдающим синдромом Хантера, как и индивид, подвергаемый лечению, приблизительно того же возраста, что и индивид, подвергаемый лечению (для сопоставимости этапов заболевания индивида, подвергаемого лечению, и контрольного индивида (индивидов)). В некоторых вариантах воплощения терапевтически эффективная доза составляет или превышает приблизительно 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 мг. В конкретных вариантах воплощения терапевтически эффективная доза составляет или превышает приблизительно 10 мг. В конкретных вариантах воплощения терапевтически эффективная доза составляет или превышает приблизительно 30 мг. В некоторых вариантах воплощения терапевтически эффективная доза составляет менее приблизительно 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15 или 10 мг. В конкретных вариантах воплощения терапевтически эффективная доза составляет менее приблизительно 30 мг. В некоторых вариантах воплощения терапевтически эффективная доза находится в диапазоне приблизительно 1-100 мг, приблизительно 5-100 мг, приблизительно 5-90 мг, приблизительно 5-80 мг, приблизительно 5-70 мг, приблизительно 5-60 мг, приблизительно 5-60 мг, приблизительно 10-100 мг, приблизительно 10-90 мг, приблизительно 10-80 мг, приблизительно 10-70 мг, приблизительно 10-60 мг или приблизительно 10-50 мг.

В некоторых вариантах воплощения подходящая терапевтически эффективная доза, регулярно вводимая с определенным интервалом, приводит к ППКss рекомбинантного фермента I2S в сыворотке в диапазоне от приблизительно 200000 мин нг/мл до приблизительно 1000000 мин нг/мл (например, от приблизительно 250000 до приблизительно 900000 мин нг/мл, от приблизительно 300000 до приблизительно 800000 мин нг/мл, от приблизительно 350000 до приблизительно 700000 мин нг/мл, от приблизительно 400000 до приблизительно 600000 мин нг/мл).

В некоторых вариантах воплощения подходящая терапевтически эффективная доза, регулярно вводимая с определенным интервалом, приводит к максимальной концентрации ( $C_{\text{макс}}$ ) рекомбинантного фермента I2S в сыворотке в диапазоне от приблизительно 60 до приблизительно 300 нг/мл (например, от приблизительно 70 до приблизительно 250 нг/мл, от приблизительно 70 до приблизительно 200 нг/мл, от приблизительно 70 до приблизительно 150 нг/мл, от приблизительно 80 до приблизительно 250 нг/мл, от приблизительно 80 до приблизительно 200 нг/мл, от приблизительно 80 до приблизительно 150 нг/мл, от приблизительно 90 до приблизительно 250 нг/мл, от приблизительно 90 до приблизительно 200 нг/мл, от приблизительно 90 до приблизительно 150 нг/мл).

В некоторых вариантах воплощения подходящий интервал введения составляет раз в неделю, раз в две недели, два раза в месяц, раз в три недели, раз в месяц, раз в два месяца, раз в три месяца, раз в четыре месяца, раз в пять месяцев, раз в шесть месяцев, два раза в год, раз в год или является переменным интервалом. При использовании здесь, фраза "раз в месяц" является эквивалентом "раз в четыре недели".

В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение выполняют посредством люмбальной пункции. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение выполняют посредством резервуара Оммайя. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение осуществляют посредством периодического или непрерывного доступа к имплантированному устройству интратекальной доставки лекарственных препаратов (IDDD). В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение осуществляют посредством непрерывного доступа к имплантированному IDDD, например, в течение более чем 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5 или 5,0 ч.

В некоторых вариантах воплощения период лечения составляет по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18, 24 или более месяцев. В некоторых вариантах воплощения период лечения составляет по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более лет. В некоторых вариантах воплощения период лечения продолжается в течение всей жизни субъекта, подвергаемого лечению.

В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к уровню ГАГ в СМЖ менее чем приблизительно 1000 нг/мл (например, менее чем приблизительно 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300 нг/мл, 200, 100, 50, 10 или 1 нг/мл). В некоторых вариантах воплощения возраст субъекта, подвергаемого лечению, составляет по меньшей мере 6 месяцев, 12 месяцев, 18 месяцев, 2 года, 2,5 года, 3 года, 3,5 года, 4 года, 4,5 года или 5 лет. В некоторых вариантах воплощения субъекту, подвергаемому лечению, меньше 5, 4,5, 4, 3,5, 3, 2,5, 2 или 1,5 лет. В некоторых вариантах воплощения субъекту, подвергаемому лечению, меньше 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 месяца. В некоторых вариантах воплощения субъекту, подвергаемому лечению, меньше 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 дня(дней). В некоторых вариантах воплощения уровень ГАГ в СМЖ субъекта, нуждающегося в лечении, до лечения составляет более чем приблизительно 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500 или 2000 нг/мл.

В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение выполняют в сочетании с внутривенным введением рекомбинантного фермента I2S. В некоторых вариантах воплощения внутривенное введение рекомбинантного фермента I2S осуществляют раз в неделю. В некоторых вариантах воплощения внутривенное введение рекомбинантного фермента I2S осуществляют раз в неделю, за исключением недели, на которой осуществляют интратекальное введение. В некоторых вариантах воплощения внутривенное введение рекомбинантного фермента I2S осуществляют раз в две недели, раз в три недели, раз в месяц, два раза в месяц, раз в два, три, четыре, пять или шесть месяцев. В некоторых вариантах воплощения внутривенное введение рекомбинантного фермента I2S осуществляют в дозе приблизительно 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 или 1,0 мг/кг массы тела. В некоторых вариантах воплощения внутривенное введение рекомбинантного фермента I2S осуществляют в дозе приблизительно 0,5 мг/кг массы тела.

В различных вариантах воплощения способ, согласно настоящему изобретению, дополнительно включает этап коррекции дозы и/или интервала для интратекального и/или внутривенного введения в зависимости от уровня ГАГ в СМЖ. В некоторых вариантах воплощения этап коррекции включает повышение терапевтически эффективной дозы для интратекального введения, если уровень ГАГ в СМЖ не уменьшается по сравнению с контролем после 6, 5, 4 или 3 доз. В некоторых вариантах воплощения этап коррекции включает повышение терапевтически эффективной дозы для интратекального введения, если уровень ГАГ в СМЖ не уменьшается по сравнению с контролем после 4 доз. В различных вариантах воплощения интратекальное введение, согласно настоящему изобретению, не приводит к серьезным нежелательным эффектам у субъекта. В различных вариантах воплощения интратекальное введение, согласно настоящему изобретению, не требует применения иммунодепрессанта.

В конкретных вариантах воплощения настоящее изобретение обеспечивает способ лечения синдрома Хантера, включающий интратекальное введение субъекту, нуждающемуся в лечении, рекомбинантного фермента идуронат-2-сульфатазы (I2S) в первой терапевтически эффективной дозе и внутривенное введение субъекту рекомбинантного фермента I2S во второй терапевтически эффективной дозе в течение периода лечения, достаточного для снижения уровня гликозаминогликана (ГАГ) в спинномозговой жидкости (СМЖ) по сравнению с контролем. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение осуществляют раз в месяц. В некоторых вариантах воплощения внутривенное введение осуществляют



комбинантного фермента I2S в первой терапевтически эффективной дозе и внутривенное введение субъекту рекомбинантного фермента I2S во второй терапевтически эффективной дозе в течение периода лечения, достаточного для снижения уровня гликозаминогликана (ГАГ) в спинномозговой жидкости (СМЖ) по сравнению с контролем.

В некоторых вариантах воплощения способ, фермент для применения или применение, описанные здесь, предназначены для лечения субъекта с когнитивными нарушениями. В некоторых вариантах воплощения показатель GCA или фактор развития BSID-III субъекта, подвергаемого лечению, до лечения составляет менее 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 15, 10 или не поддается проверке. В некоторых вариантах воплощения показатель GCA или фактор развития BSID-III субъекта, подвергаемого лечению, до лечения снижается менее чем на приблизительно 40, 35, 30, 25, 20, 15 или 10% по сравнению с нормальным исходным уровнем. В некоторых вариантах воплощения показатель GCA или фактор развития BSID-III субъекта, подвергаемого лечению, до лечения находится в диапазоне приблизительно 60-100 (например, приблизительно 60-95, 60-90, 60-85, 60-80, 60-75, 60-70, 70-100, 70-95, 70-90, 70-85, 70-80, 80-100, 80-95, 80-90). В некоторых вариантах воплощения способ, фермент для применения или применение, описанные здесь, предназначены для стабилизации или улучшения когнитивной деятельности у субъекта с синдромом Хантера.

В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение обеспечивает рекомбинантный фермент идуронат-2-сульфатазу (I2S) для применения при способе стабилизации или улучшения когнитивной деятельности у субъекта с синдромом Хантера, при этом способ включает этап интратекального введения субъекту, нуждающемуся в лечении, рекомбинантного фермента I2S в терапевтически эффективной дозе и с интервалом введения в течение периода лечения, достаточных для улучшения, стабилизации или ослабления снижения одной или более когнитивных, адаптивных, моторных и/или управляющих функций по сравнению с контролем.

В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение обеспечивает рекомбинантный фермент идуронат-2-сульфатазу (I2S) для применения при способе стабилизации или улучшения когнитивной деятельности у субъекта с синдромом Хантера, при этом способ включает этап интратекального введения субъекту, нуждающемуся в лечении, рекомбинантного фермента I2S в терапевтически эффективной дозе и с интервалом введения в течение периода лечения, достаточных для снижения уровня гликозаминогликана (ГАГ) в спинномозговой жидкости (СМЖ) по сравнению с контролем.

В настоящем изобретении термины "приблизительно" и "примерно" являются эквивалентными. Подразумевается, что любые числительные, используемые в настоящем изобретении с терминами "приблизительно/примерно" или без них охватывают любые отклонения, являющиеся обычными согласно оценке специалиста в данной области техники.

Другие признаки, задачи и преимущества настоящего изобретения приведены в подробном описании, которое следует ниже. Однако следует понимать, что подробное описание, показывающее варианты воплощения настоящего изобретения, приведено только в качестве иллюстрации, а не в качестве ограничения. Различные изменения и модификации в рамках изобретения станут очевидны для специалистов в данной области техники из подробного описания.

#### **Краткое описание чертежей**

Графические материалы приведены только для иллюстрации, а не для ограничения.

На фигурах 1-4 представлено типичное моделирование I2S в сыворотке и СМЖ.

На фиг. 5 представлены типичные аллометрически масштабируемые популяционные фармакокинетические параметры доставки ИТ-I2S у субъектов детского возраста после поправки на различия между нечеловекообразными приматами и детьми с использованием массы головного мозга и тела.

На фиг. 6 представлены типичные концентрации I2S в сыворотке, масштабируемые по массе тела, в зависимости от масштабируемого времени у субъектов детского возраста и обезьян после ИТ-I2S введения.

На фиг. 7 представлен профиль наблюдаемой и прогнозируемой концентрации I2S в сыворотке субъектов детского возраста после однократного в/в вливания.

На фиг. 8 представлен профиль наблюдаемой и прогнозируемой концентрации I2S в сыворотке субъектов детского возраста после однократного ИТ-I2S введения 10 мг.

На фиг. 9 представлен профиль наблюдаемой и прогнозируемой концентрации I2S в сыворотке субъектов детского возраста после однократного ИТ-I2S введения 10 мг.

Показаны типичные наблюдаемые и прогнозируемые профили концентрации с поправкой или без поправки на массу головного мозга и тела.

На фиг. 10 представлен пробоотбор I2S в сыворотке и СМЖ пациентов детского возраста в различные моменты времени и при различных параметрах.

На фиг. 11 представлен предполагаемый уровень концентрации I2S в сыворотке у субъекта человека после ИТ введения 1, 10, 30 и 100 мг с использованием модели человека.

На фиг. 12 представлен предполагаемый уровень концентрации I2S в сыворотке у субъекта человека после ИТ введения 1, 10, 30 и 100 мг с использованием аллометрической модели.

На фиг. 13 продемонстрированы типичные средние профили "концентрация I2S в сыворотке - вре-



мя" у пациентов первой группы на 3 неделе.

На фиг. 14 продемонстрированы типичные средние профили "концентрация I2S в сыворотке - время" у пациентов первой группы на 23 неделе.

На фиг. 15 продемонстрированы типичные средние профили "концентрация I2S в сыворотке - время" у пациентов на 3 неделе, 23 неделе и в 19 месяце.

На фиг. 16 представлены типичные уровни ГАГ в спинномозговой жидкости у пациентов, получавших 10 мг рекомбинантной I2S ИТ в течение 36 месяцев.

На фиг. 17 представлены типичные уровни ГАГ в спинномозговой жидкости у пациентов, получавших 30 мг рекомбинантной I2S ИТ в течение 15 месяцев.

На фиг. 18 продемонстрированы типичные уровни ГАГ в спинномозговой жидкости у пациентов-участников клинического исследования, получавших 1, 10 или 30 мг I2S в течение 27 недель, по сравнению с контролем.

На фиг. 19 представлен типичный стандартный показатель широкой независимости SIB-R у отдельных пациентов в зависимости от фактического возраста.

На фиг. 20 показаны дополнительные типичные инструменты для оценки когнитивной деятельности.

На фиг. 21 показаны подтесты DAS-II.

### Определения

Для облегчения понимания настоящего изобретения, ниже сначала даны определения некоторых терминов. Дополнительные определения последующих терминов и другие термины приведены в тексте описания.

Приблизительно или около: при использовании здесь термин "приблизительно" или "около", в применении для одного или более значений, представляющих интерес, относится к значению, близкому к установленному стандартному значению. В некоторых вариантах воплощения термин "приблизительно" или "около" относится к диапазону значений, находящихся в пределах 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1% или менее в обе стороны (большую или меньшую) от установленного стандартного значения, если не указано иное или если иное не очевидно из контекста (за исключением случаев, когда число будет превышать 100% от возможного значения).

Улучшение: при использовании здесь, "улучшение" означает предотвращение, сокращение или временное облегчение состояния, или улучшение состояния субъекта. Улучшение включает, но не обязательно, полное выздоровление или полное предотвращение болезненного состояния. В некоторых вариантах воплощения улучшение включает повышение уровней или активности соответствующего белка, недостаточность которого наблюдается в соответствующих больных тканях.

Биологически активный: при использовании здесь, фраза "биологически активный" относится к характеристике любого агента, который обладает активностью в биологической системе и, в частности, в организме. Например, агент, который при введении в организм демонстрирует биологическое влияние на организм, считается биологически активным. В конкретных вариантах воплощения, в случаях когда белок или полипептид являются биологически активными, ту часть белка или полипептида, которая обладает по меньшей мере одним видом биологической активности белка или полипептида, как правило, называют "биологически активной" частью. Наполнитель: при использовании здесь, термин "наполнитель" относится к соединению, которое придает массу лиофилизированной смеси и делает вклад в физическую структуру лиофилизированной таблетки (например, облегчает производство практически однородной лиофилизированной таблетки, поддерживающей структуру с открытыми порами). Примеры таких наполнителей включают маннит, глицин, хлорид натрия, гидроксипропилкрахмал, лактозу, сахарозу, трегалозу, полиэтиленгликоль и декстран.

Катион-независимый рецептор маннозо-6-фосфата (CI-MPR): при использовании здесь, термин "Катион-независимый рецептор маннозо-6-фосфата (CI-MPR)" относится к клеточным рецепторам, которые связывают фрагменты маннозо-6-фосфата (М6Р) на предшественниках кислых гидролаз в аппарате Гольджи, предназначенных для транспорта в лизосомы. В дополнение к маннозо-6-фосфатам CI-MPR также связывает другие белки, в том числе IGF-II. CI-MPR также известен как "рецептор М6Р/IGF-II", "рецептор CI-MPR/IGF-II", "рецептор IGF-II" или "рецептор IGF2". Указанные термины и их сокращения используются здесь взаимозаменяемо.

Сопутствующая иммуноподавляющая терапия: при использовании здесь, термин "сопутствующая иммуноподавляющая терапия" включает любые способы иммуноподавляющей терапии, используемые в качестве предварительного лечения, прекондиционирования или параллельно со способом лечения.

Разбавитель: при использовании здесь, термин "разбавитель" относится к фармацевтически приемлемому (например, безопасному и нетоксичному для введения человеку) разбавляющему веществу, приемлемому для приготовления восстанавливаемого состава. Примеры растворителей включают стерильную воду, бактериостатическую воду для инъекций (БВИ), рН буферный раствор (например, фосфатно-солевой буфер), стерильный физиологический раствор, раствор Рингера или раствор декстрозы.

Лекарственная форма: при использовании здесь, термин "дозированная форма" и "дозированная лекарственная форма" относится к физически дискретной единице терапевтического белка для лечения

пациента. Каждая единица содержит наперед заданное количество активного вещества, рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта. Следует понимать, однако, что общая дозировка композиции должна определяться лечащим врачом в рамках обоснованного медицинского заключения. Заместительная ферментная терапия (ЗФТ): при использовании здесь, термин "заместительная ферментная терапия (ЗФТ)" относится к любой терапевтической стратегии, корректирующей недостаточность фермента путем доставки недостающего фермента. В некоторых вариантах воплощения отсутствующий фермент доставляют путем интратекального введения. В некоторых вариантах воплощения отсутствующий фермент доставляют путем вливания в кровоток. После введения фермент поглощается клетками и транспортируется в лизосомы, где фермент действует, удаляя вещества, которые накапливаются в лизосомах в результате ферментной недостаточности. Как правило, заместительная ферментная терапия лизосомальными ферментами является эффективной, терапевтические ферменты доставляются в лизосомы в соответствующих клетках тканей-мишеней, где проявляется дефект накопления.

Улучшить, увеличить или уменьшить: при использовании здесь, термины "улучшить", "увеличить" или "уменьшить" или их грамматические эквиваленты указывают значения, полученные относительно базовых измерений, например, измерения у того же самого индивида до начала лечения, описанного здесь, или измерения у контрольного индивида (или нескольких контрольных индивидов) в отсутствие лечения, описанного здесь. "Контрольные индивиды" представляют собой индивидов, страдающих теми же самыми формами лизосомной болезни накопления, что и индивиды, подвергаемые лечению, примерно того же возраста, что и индивиды, подвергаемые лечению (для сопоставимости этапов заболевания у индивида, подвергаемого лечению, и контрольного индивида (индивидов)).

Индивид, субъект, пациент: при использовании здесь, термины "индивид", "субъект" или "пациент" относятся к человеку или млекопитающему, отличному от человека. Индивид (также называемый "пациентом" или "субъектом"), подвергаемый лечению, представляет собой индивида (плод, младенца, ребенка, подростка или взрослого человека), страдающего заболеванием.

Интратекальное введение: при использовании здесь, термин "интратекальное введение" или "интратекальная инъекция" относится к инъекции в спинномозговой канал (интратекальное пространство, окружающее спинной мозг). Могут применяться различные методики, включая, без ограничений, церебровентрикулярные инъекции через трепанационное отверстие или цистерны, или спинномозговую пункцию, или тому подобное. В некоторых вариантах воплощения "интратекальное введение" или "интратекальная доставка", в соответствии с настоящим изобретением, относится к ИТ введению или доставке через поясничный отдел или область, т.е. к поясничному (люмбальному) ИТ введению или доставке, при использовании здесь, термин "поясничный отдел" или "поясничная область" относится к области между отделами позвоночника L4-L5, L3-L4, L2-L3 и/или L2-S1.

Полипептид: при использовании здесь, "полипептид", в целом, представляет собой цепочку из по меньшей мере 2 аминокислот, соединенных друг с другом при помощи пептидной связи. В некоторых вариантах воплощения полипептид может включать по меньшей мере 3-5 аминокислот, каждая из которых соединена с другими с использованием по меньшей мере одной пептидной связи. Специалистам в данной области техники известно, что полипептиды иногда включают "неприродные" аминокислоты или другие молекулы, которые, тем не менее, способны к интеграции в полипептидную цепь, необязательно.

Замещающий фермент: при использовании здесь, термин "замещающий фермент" относится к любому ферменту, который может действовать, замещая, по меньшей мере частично, недостающий или отсутствующий фермент при лечении болезни. В некоторых вариантах воплощения термин "замещающий фермент" относится к любому ферменту, действие которого может замещать, по меньшей мере частично, недостаток или отсутствие лизосомальных ферментов при лизосомных болезнях накопления, подлежащих лечению. В некоторых вариантах воплощения замещающий фермент позволяет снизить накопление веществ в лизосомах млекопитающих или может предотвратить или улучшить один или более симптомов лизосомной болезни накопления. Замещающие ферменты, пригодные для настоящего изобретения, включают в себя фермент дикого типа или модифицированный лизосомальный фермент и могут быть получены с использованием рекомбинантных и синтетических способов или выделены из природных источников. Замещающий фермент может быть рекомбинантным, синтетическим, ген-активированным или природным ферментом.

Растворимый: при использовании здесь, термин "растворимый" относится к способности терапевтического агента образовывать гомогенный раствор. В некоторых вариантах воплощения растворимость терапевтического агента в растворе, в который он введен и с использованием которого он транспортируется к области-мишени (например, к клеткам и тканям головного мозга), является достаточной для доставки терапевтически эффективного количества терапевтического агента к области-мишени. Несколько факторов могут повлиять на растворимость терапевтических агентов. Например, факторы, которые могут влиять на растворимость белка, включают ионную силу, аминокислотную последовательность и наличие других сопутствующих сольбилизирующих агентов или солей (например, солей кальция). В некоторых вариантах воплощения фармацевтические композиции составлены так, что соли кальция исключаются из таких композиций. В некоторых вариантах воплощения терапевтические агенты, в соответствии с настоящим изобретением, растворимы в соответствующей фармацевтической композиции. Следует прини-

мать во внимание, что, хотя изотонические растворы, как правило, предпочтительны для парентерального введения составов, применение изотонических растворов может ограничивать адекватную растворимость для некоторых терапевтических агентов и, в частности, некоторых белков и/или ферментов. продемонстрировано, что слегка гипертонические растворы (например, до 175 мМ хлорида натрия в 5 мМ фосфата натрия при pH 7,0) и сахаросодержащие растворы (например, до 2% сахарозы в 5 мМ фосфата натрия при pH 7,0) хорошо переносятся обезьянами. Например, наиболее распространенной принятой композицией болюсного состава для ЦНС является физиологический раствор (150 мМ NaCl в воде). Стабильность: при использовании здесь, термин "стабильный" относится к способности терапевтического агента (например, рекомбинантного фермента) поддерживать свою терапевтическую эффективность (например, все или большинство видов предполагаемой биологической активности и/или физико-химическую целостность) в течение длительных периодов времени. Стабильность терапевтического агента и способность фармацевтической композиции поддерживать стабильность такого терапевтического агента могут быть оценены в течение длительных периодов времени (например, по меньшей мере в течение 1, 3, 6, 12, 18, 24, 30, 36 месяцев и более). В общем фармацевтические композиции, описанные здесь, были составлены таким образом, чтобы они были способны стабилизировать или, альтернативно, замедлять, или предотвращать деградацию одного или более терапевтических агентов, составленных с ними (например, рекомбинантных белков). В контексте состава стабильный состав является таким составом, в котором терапевтический агент фактически сохраняет свою физическую и/или химическую целостность, и биологическую активность при хранении и при проведении с ним различных операций (например, в ходе замораживания/оттаивания, механического перемешивания и лиофилизации). Стабильность белка можно оценить на основании образования высокомолекулярных (ВМ) агрегатов, потери ферментативной активности, формирования пептидных фрагментов и по сдвигу профилей заряда.

Субъект: при использовании здесь, термин "субъект" обозначает любое млекопитающее, включая человека. В некоторых вариантах воплощения настоящего изобретения субъект является взрослым, подростком или младенцем. Кроме того, настоящее изобретение предусматривает введение фармацевтической композиции и/или осуществление внутритрурных способов лечения.

Существенная гомология: при использовании здесь, фраза "существенная гомология" относится к сравнению аминокислотных или нуклеотидных последовательностей. Как должны принимать во внимание специалисты в данной области техники, две последовательности обычно считаются "практически гомологичными", если они содержат гомологичные остатки в соответствующих положениях. Гомологичные остатки могут быть идентичными остатками. Кроме того, гомологичные остатки могут быть не идентичными остатками, обладающими, соответственно, аналогичными структурными и/или функциональными характеристиками. Например, как хорошо известно специалистам в данной области техники, некоторые аминокислоты обычно классифицируются как "гидрофобные" или "гидрофильные" аминокислоты, и/или аминокислоты с "полярными" или "неполярными" боковыми цепями. Замена одной аминокислоты на другую того же типа часто может считаться "гомологичной" заменой. Как хорошо известно в данной области техники, аминокислотные или нуклеотидные последовательности можно сравнивать с использованием любого из множества алгоритмов, в том числе алгоритмов, доступных в коммерческих компьютерных программах, например, BLASTN для нуклеотидных последовательностей и BLASTP, gapped BLAST и PSI-BLAST для аминокислотных последовательностей. Примеры таких программ описаны в работах Altschul, et al., Basic local alignment search tool, J. Mol Biol, 215(3): 403-410, 1990; Altschul, et al., Methods in Enzymology, Altschul, et al., "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", Nucleic Acids Res. 25:3389-3402, 1997; Baxevanis, et al., Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins, Wiley, 1998; и Misener, et al., (eds.), Bioinformatics Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology, Vol. 132), Humana Press, 1999. В дополнение к идентификации гомологичных последовательностей программы, упомянутые выше, как правило, обеспечивают индикацию степени гомологии. В некоторых вариантах воплощения две последовательности считаются практически гомологичными, если по меньшей мере 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% или более их соответствующих остатков гомологичны соответствующему участку остатков. В некоторых вариантах воплощения соответствующий участок является полной последовательностью. В некоторых вариантах воплощения соответствующий участок составляет по меньшей мере 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500 или более остатков.

Существенная идентичность: фраза "существенная идентичность" используется здесь по отношению к сравнению аминокислотных или нуклеотидных последовательностей. Как должны принимать во внимание специалисты в данной области техники, две последовательности, как правило, считаются "практически идентичными", если они содержат одинаковые остатки в соответствующих положениях. Как хорошо известно в данной области техники, аминокислотные или нуклеотидные последовательности можно сравнивать с использованием любого из множества алгоритмов, в том числе алгоритмов, доступных в коммерческих компьютерных программах, например, BLASTN для нуклеотидных последовательностей и BLASTP, gapped BLAST и PSI-BLAST для аминокислотных последовательностей. Примеры таких программ описаны в работах Altschul, et al., Basic local alignment search tool, J. Mol. Biol, 215(3):

403-410, 1990; Altschul, et al, Methods in Enzymology, Altschul et al, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402, 1997; Baxevanis et al, Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins, Wiley, 1998; и Misener, et al., (eds), Bioinformatics Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology, Vol. 132), Humana Press, 1999. В дополнение к определению одинаковых последовательностей программы, упомянутые выше, как правило, обеспечивают индикацию степени идентичности. В некоторых вариантах воплощения две последовательности считаются практически идентичными, если по меньшей мере 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% или более их соответствующих остатков идентичны соответствующему участку остатков. В некоторых вариантах воплощения соответствующий участок является полной последовательностью. В некоторых вариантах воплощения соответствующий участок составляет по меньшей мере 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500 или более остатков. Ткани-мишени: при использовании здесь, термин "ткани-мишени" относится к любой ткани, пораженной лизосомной болезнью накопления, подлежащей лечению, или любой ткани, в которой дефектный лизосомный фермент экспрессируется в норме. В некоторых вариантах воплощения ткани-мишени включают ткани, в которых обнаруживается или является аномально высоким количество субстрата фермента, например, накопленного в лизосомах клеток ткани пациентов, страдающих или предрасположенных к лизосомной болезни накопления. В некоторых вариантах воплощения ткани-мишени включают ткани, демонстрирующие патологию, симптом или признак, ассоциированные с такой болезнью. В некоторых вариантах воплощения ткани-мишени включают ткани, в которых дефектный лизосомальный фермент в норме экспрессируется на высоком уровне. При использовании здесь, ткань-мишень может представлять собой ткань-мишень головного мозга, ткань-мишень спинного мозга и/или периферическую ткань-мишень. Примеры тканей-мишеней подробно описаны ниже. Терапевтическая группа/фрагмент: при использовании здесь, термин "терапевтическая группа/фрагмент" относится к части молекулы, которая обуславливает терапевтический эффект молекулы. В некоторых вариантах воплощения терапевтическая группа/фрагмент представляет собой полипептид, обладающий терапевтической активностью.

Терапевтически эффективное количество: при использовании здесь, термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству терапевтического белка (например, замещающего фермента), которое обуславливает терапевтический эффект у субъекта, подвергаемого лечению, при разумном соотношении польза/риск, применимом для любого варианта лечения. Терапевтический эффект может быть объективным (то есть измеряемым с использованием ряда тестов или с использованием маркера) или субъективным (т.е. сам субъект сообщает об эффекте или ощущает такой эффект). В частности, "терапевтически эффективное количество" относится к количеству терапевтического белка или композиции, которые обеспечивают лечение, улучшение или предотвращение желаемого заболевания или состояния, или демонстрирует заметный терапевтический или профилактический эффект, такой как улучшение симптомов, связанных с болезнью, предотвращение или задержка проявления заболевания, и/или уменьшение тяжести или частоты симптомов заболевания. Терапевтически эффективное количество обычно вводят в рамках схемы приема, которая может включать множественный прием стандартных доз. Для любого конкретного терапевтического белка терапевтически эффективное количество (и/или соответствующая доза в пределах эффективной схемы приема) может варьировать, например, в зависимости от пути введения, комбинации с другими фармацевтическими средствами. Кроме того, конкретное терапевтически эффективное количество (и/или доза) для любого конкретного пациента может зависеть от различных факторов, в том числе от конкретного расстройства, подвергаемого лечению, и тяжести расстройства; активности конкретного применяемого фармацевтического средства; конкретной применяемой композиции; возраста, массы тела, общего состояния здоровья, пола и рациона пациента; времени введения, пути введения и/или скорости выведения или метаболизма конкретного применяемого гибридного белка; продолжительности лечения; и других подобных факторов, хорошо известных специалистам в области медицины.

Переносимый: при использовании здесь, термины "переносимый" и "переносимость" относятся к способности фармацевтической композиции, согласно настоящему изобретению, не вызывать нежелательной реакции у субъекта, которому вводят такую композицию, или, в альтернативном варианте, не вызывать серьезной нежелательной реакции у субъекта, которому вводят подобную композицию. В некоторых вариантах воплощения фармацевтические композиции, согласно настоящему изобретению, хорошо переносятся субъектами, которым вводят подобные композиции. Лечение: при использовании здесь, термин "лечение" (а также "лечить") относится к любому введению терапевтического белка (например, лизосомального фермента), которое частично или полностью смягчает, улучшает состояние, снимает, ингибирует, задерживает наступление, уменьшает тяжесть и/или уменьшает частоту одного или более симптомов или особенностей конкретного заболевания, расстройства и/или состояния (например, синдрома Хантера). Такое лечение можно осуществлять для субъекта, у которого не проявляются признаки соответствующего заболевания, расстройства и/или состояния, и/или субъекта, у которого проявляются лишь первые признаки заболевания, расстройства и/или состояния. В качестве альтернативы или дополнения такое лечение можно осуществлять для субъекта, у которого проявляется один или более из выраженных признаков соответствующего заболевания, расстройства и/или состояния.

### Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение обеспечивает, в числе прочего, эффективный способ лечения синдрома Хантера, в частности, синдрома Хантера с когнитивными нарушениями, на основе интратекального введения рекомбинантного фермента идуронат-2-сульфатазы (I2S). В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение обеспечивает способ лечения синдрома Хантера путем интратекального введения субъекту, нуждающемуся в лечении, рекомбинантного фермента идуронат-2-сульфатазы (I2S) в терапевтически эффективной дозе и с интервалом введения в течение периода лечения, достаточных для улучшения, стабилизации или ослабления снижения одной или более когнитивных, адаптивных, моторных и/или управляющих функций по сравнению с контролем (например, исходной оценкой или измерением до лечения), и/или снижения уровня гликозаминогликана (ГАГ) в спинномозговой жидкости (СМЖ) по сравнению с контролем (например, исходной оценкой или измерением до лечения). В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение осуществляют в сочетании с внутривенным введением.

Различные аспекты настоящего изобретения подробно описаны в следующих разделах. Использование разделов не предназначено для ограничения настоящего изобретения. Каждый раздел можно применить к любому аспекту настоящего изобретения. В настоящем изобретении использование "или" означает "и/или", если не указано иное.

Рекомбинантный фермент идуронат-2-сульфатаза (I2S).

При использовании здесь, термин "рекомбинантный фермент идуронат-2-сульфатаза (I2S)" включает любую молекулу или фрагмент молекулы, которая может заменить активность природного фермента идуронат-2-сульфатазы (I2S) или восстановить один или более фенотипов или симптомов, ассоциированных с недостаточностью I2S. В некоторых вариантах воплощения рекомбинантный фермент I2S, подходящий для изобретения, представляет собой полипептид, имеющий N-конец и C-конец, и аминокислотную последовательность, практически аналогичную или идентичную зрелому белку I2S человека. Термины "белок" и "фермент" применяются взаимозаменяемо в связи с I2S. Рекомбинантный фермент или белок в настоящем изобретении также относятся к замещающему ферменту или белку.

Как правило, белок I2S человека продуцируется в виде предшественника.

Предшественник I2S человека содержит сигнальный пептид (аминокислотные остатки 1-25 полноразмерного предшественника), пропептид (аминокислотные остатки 26-33 полноразмерного предшественника) и цепь (остатки 34-550 полноразмерного предшественника), которая может дополнительно подвергаться процессингу с образованием 42-кДа цепи (остатки 34-455 полноразмерного предшественника) и 14-кДа цепи (остатки 446-550 полноразмерного предшественника). Как правило, форма предшественника также относится к полноразмерному предшественнику или полноразмерному белку I2S, содержащему 550 аминокислот. Аминокислотные последовательности зрелой формы (SEQ ID NO: 1) с удаленным сигнальным пептидом и полноразмерного предшественника (SEQ ID NO: 2) типичного белка I2S человека дикого типа или природного приведены в табл. 1.

## Идуронат-2-сульфатаза человека

<b>Зрелая форма</b>	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRLPSLGCYGDKLVRSNIDQLASHSL LFQNAFA QQAVCAPSRVSVFLTGRRPDTRLRYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKE NGYVTMSV GKVFHPGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGELH ANLLCPVD VLDVPEGTLDPKQSTEQAIQLLEKMKTSASPFFLAVGYHKPHIPFRY PKEFQKL YPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGP PVDQFQK IRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAFTSDHGWALGE HGEWAKYS NFDVATHVPLIFYVPGRTASLPEAGEKLFYLDPFDSASQLMEPGRQ SMDLVEL VSLFPTLAGLAGLQVPPRCVPSFHVLCREGKNLLKHFRFRDLEE DPYLPGNP RELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLKDIIKIMGYSIRTIDYRYTVWVG FNPDEFL ANFSDIHAGELYFVDSPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMP(SEQ ID NO:1)
<b>Полноразмерный предшественник</b>	MPPPRTRGRLLWLGLVLSVVCVALGSETQANSTTDALNVLLIIVDD LRPSLGCY GDKLVRSNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSVFLTGRRPDTR RLYDFNSY WRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVKGKVFHPGISSNHTDDSPYSW SFPPYHPSS EKYENTKTCRGPDGELHANLLCPVDVLDVPEGTLDPKQSTEQAIQL LEKMKTSA SPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPEVPDGLPPVA YNPWMDI RQREDVQALNISVPYGPVDFQKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSA LDDLQLA NSTIIAFTSDHGWALGHEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTASL
	PEAGEKLF PYLDPFDSASQLMEPGRQSMDELVELVSLFPTLAGLAGLQVPPRCV PSFHVLC REGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSD KPSLKDIIK IMGYSIRTIDYRYTVWVG FNPDEFLANFSDIHAGELYFVDSPLQD HNMYNDSQGGDLFQLLMP(SEQ ID NO:2)

Таким образом, в некоторых вариантах воплощения рекомбинантный фермент I2S, подходящий для настоящего изобретения, является зрелым белком I2S человека (SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах воплощения подходящий рекомбинантный фермент I2S может являться гомологом или аналогом зрелого белка I2S человека. Например, гомолог или аналог зрелого белка I2S человека может являться модифицированным зрелым белком I2S человека, содержащим одну или более аминокислотных замен, делеций и/или инсерций по сравнению с белком дикого типа или природным белком I2S (например, SEQ ID NO:

1), сохраняя при этом существенную активность белка I2S. Так, в некоторых вариантах воплощения рекомбинантный фермент I2S, подходящий для настоящего изобретения, практически гомологичен зрелому белку I2S человека (SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах воплощения рекомбинантный фермент I2S, подходящий для настоящего изобретения, обладает аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% или более гомологичной SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах воплощения рекомбинантный фермент I2S, подходящий для настоящего изобретения, практически идентичен зрелому белку I2S человека (SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах воплощения рекомбинантный фермент I2S, подходящий для настоящего изобретения, обладает аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% или более идентичной SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах воплощения рекомбинантный фермент I2S, подходящий для настоящего изобретения, содержит фрагмент или часть зрелого белка I2S человека. В качестве альтернативы рекомбинантный фермент I2S, подходящий для настоящего изобретения, является полноразмерным белком I2S. В некоторых вариантах воплощения подходящий рекомбинантный фермент I2S может являться гомологом или аналогом полноразмерного белка I2S человека. Например, гомолог или аналог полноразмерного белка I2S человека может представлять собой модифицированный полноразмерный белок I2S человека, содержащий одну или более аминокислотных замен, делеций и/или инсерций по сравнению с белком дикого типа или природным полноразмерным белком I2S (например, SEQ ID NO: 2), сохраняя при этом существенную активность белка I2S. Так, в некоторых вариантах воплощения рекомбинантный фермент I2S, подходящий для настоящего изобретения, практически гомологичен полноразмерному белку I2S человека (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах воплощения рекомбинантный фермент I2S, подходящий для настоящего изобретения, обладает аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% или более гомологичной SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах воплощения рекомбинантный фермент I2S, подходящий для настоящего изобретения, практически идентичен SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах воплощения рекомбинантный фермент I2S, подходящий для настоящего изобретения, обладает аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% или более идентичной SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах воплощения рекомбинантный фермент I2S, подходящий для настоящего изобретения, содержит фрагмент или часть полноразмерного белка I2S человека. При использовании здесь, полноразмерный белок I2S обычно содержит последовательность сигнального пептида.

Рекомбинантный фермент I2S, подходящий для настоящего изобретения, можно получить любым доступным способом. Например, замещающие ферменты можно получить рекомбинантным путем с использованием системы клетки-хозяина, в которой экспрессируются нуклеиновые кислоты, кодирующие замещающий фермент. В качестве альтернативы или дополнения рекомбинантные ферменты I2S можно получить путем активации эндогенных генов. В качестве альтернативы или дополнения рекомбинантные ферменты I2S можно частично или полностью получить путем химического синтеза. В качестве альтернативы или дополнения рекомбинантные ферменты I2S также можно выделить из природных источников.

При получении ферментов рекомбинантным путем можно применять любую систему экспрессии. Например, известные системы экспрессии включают яйцеклетки, бакуловирусы, растения, дрожжи или клетки млекопитающих.

В некоторых вариантах воплощения ферменты, подходящие для настоящего изобретения, получают в клетках млекопитающих. Неограничивающие примеры клеток млекопитающих, которые можно применять в соответствии с настоящим изобретением, включают линию миеломы мыши BALB/c (NSO/1, № ECACC 85110503); ретинобласты человека (PER.C6, Stucell, Лейден, Нидерланды); линию клеток почки обезьяны CV1, трансформированную SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651); линию клеток почки эмбриона человека (клетки 293 или 293, субклонированные для роста в суспензионной культуре, Graham et al., J. Gen Virol, 36:59,1977); линию клеток фибросаркомы человека (например, HT1080); клетки почки детеныша хомяка (BHK, ATCC CCL 10); клетки яичника китайского хомячка +/-DHFR (CHO, Urlaub and Chasin, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4216, 1980); клетки Сертоли мыши (TM4, Mather, Biol. Reprod., 23:243-251, 1980); клетки почки обезьяны (CV1 ATCC CCL 70); клетки почки африканской зеленой марышки (VERO-76, ATCC CRL-1 587); клетки цервикальной карциномы человека (HeLa, ATCC CCL 2); клетки почки собаки (MDCK, ATCC CCL 34); клетки печени крысы buffalo (BRL 3A, ATCC CRL 1442); клетки легкого человека (W138, ATCC CCL 75); клетки печени человека (Hep G2, HB 8065); клетки опухоли молочной железы мыши (MMT 060562, ATCC CCL51); клетки TRI (Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci., 383:44-68, 1982); клетки MRC 5; клетки FS4 и линию гепатомы человека (Hep G2).

В некоторых вариантах воплощения рекомбинантные ферменты I2S, подходящие для настоящего изобретения, получают в клетках человека. В некоторых вариантах воплощения рекомбинантные ферменты I2S, подходящие для настоящего изобретения, получают в клетках CHO.

В некоторых вариантах воплощения рекомбинантные ферменты I2S, подходящие для настоящего изобретения, содержат группу, связывающуюся с рецепторами на поверхности клеток головного мозга, что способствует поглощению клетками и/или адресному воздействию на лизосомы. Например, такой

рецептор может являться катион-независимым рецептором маннозо-6-фосфата (CI-MPR), который связывается с остатками маннозо-6-фосфата (М6Р). Кроме того, CI-MPR также связывается с другими белками, в том числе IGF-II. В некоторых вариантах воплощения рекомбинантный фермент I2S, подходящий для настоящего изобретения, содержит остатки М6Р на поверхности белка. В некоторых вариантах воплощения рекомбинантный фермент I2S, подходящий для настоящего изобретения, может содержать бис-фосфорилированные олигосахариды, обладающие повышенным сродством связывания с CI-MPR. В некоторых вариантах воплощения подходящий рекомбинантный фермент I2S в среднем содержит по меньшей мере приблизительно 20% бис-фосфорилированных олигосахаридов. В других вариантах воплощения подходящий фермент может содержать приблизительно 10, 15, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60% бис-фосфорилированных олигосахаридов. Хотя такие бис-фосфорилированные олигосахариды могут естественным образом присутствовать в ферменте, следует отметить, что ферменты можно модифицировать с получением ферментов, содержащих такие олигосахариды. Например, подходящие рекомбинантные ферменты I2S можно модифицировать с помощью некоторых ферментов, которые способны катализировать перенос N-ацетилглюкозамин-L-фосфата из UDP-GlcNAc в положение 6'  $\alpha$ -1,2-связанных манноз на лизосомальных ферментах. Способы и композиции для получения и применения таких ферментов описаны, например, Canfield et al. в патенте США № 6537785 и патенте США № 6534300, полностью включенных сюда посредством ссылок.

В некоторых вариантах воплощения рекомбинантные ферменты I2S для применения в настоящем изобретении можно конъюгировать или гибридизовать с молекулами, обуславливающими направленную лизосомную доставку, способными связываться с рецептором на поверхности клеток головного мозга. Подходящими молекулами для лизосомной доставки могут быть IGF-I, IGF-II, RAP, p97 и их варианты, гомологи или фрагменты (например, включая их пептиды с последовательностью, по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90 или 95% идентичной последовательности зрелого пептида IGF-I, IGF-II, RAP, p97 дикого типа человека).

В некоторых вариантах воплощения рекомбинантные ферменты I2S, пригодные для настоящего изобретения, не модифицированы для улучшения доставки или транспорта таких агентов через ГЭБ и в ЦНС.

#### Инtrateкальное введение.

В некоторых вариантах воплощения рекомбинантный фермент I2S доставляют в ЦНС путем введения в спинномозговую жидкость (СМЖ) субъекта, нуждающегося в таком лечении. В некоторых вариантах воплощения для доставки желательного замещающего фермента в СМЖ применяют инtrateкальное введение. При использовании здесь инtrateкальное введение (также называемое инtrateкальной инъекцией) относится к инъекции в спинномозговой канал (инtrateкальное пространство, окружающее спинной мозг). Можно применять различные методики, включая, без ограничений, латеральные церебровентрикулярные инъекции через трепанационное отверстие или цистерны, или спинномозговую пункцию и т.п. Типичные способы описаны в международной заявке WO2011/163648 под названием "CNS Delivery of Therapeutic Agents (Доставка терапевтических агентов в ЦНС)", содержание которой включено сюда посредством ссылки.

В соответствии с настоящим изобретением рекомбинантный фермент I2S можно вводить путем инъекции в любую область вокруг спинномозгового канала. В некоторых вариантах воплощения фермент вводят путем инъекции в поясничную область или большую цистерну, или интравентрикулярно в пространство мозгового желудочка. При использовании здесь термин "поясничный отдел" или "поясничная область" относится к области между третьим и четвертым поясничными (нижняя часть спины) позвонками и, более строго, к отделу позвоночника L2-S1. Как правило, инtrateкальную инъекцию через поясничный отдел или поясничную область также называют "поясничной ИТ доставкой" или "поясничным ИТ введением". Термин "большая цистерна" относится к пространству вокруг и ниже мозжечка через отверстие между черепом и верхней частью позвоночника. Как правило, инtrateкальное введение через большую цистерну, также упоминается как "доставка в заднюю мозжечково-мозговую цистерну". Термин "желудочек мозга" относится к полости мозга, которая продолжается в центральный канал спинного мозга. Как правило, инъекции через мозговую полость желудочка называют интравентрикулярной церебральной (ИВЦ) доставкой.

В некоторых вариантах воплощения "инtrateкальное введение" или "инtrateкальная доставка", в соответствии с настоящим изобретением, относится к люмбальному ИТ введению или доставке, например, доставке между третьим и четвертым поясничными (нижняя часть спины) позвонками и, более конкретно, в отдел позвоночника L2-S1. Предполагается, что люмбальное ИТ введение или доставка отличается от доставки в большую цистерну тем, что люмбальное ИТ введение или доставка, в соответствии с настоящим изобретением, обеспечивает лучшую и более эффективную доставку в дистальный канал позвоночника, в то время как доставка в большую цистерну, помимо всего прочего, как правило, не обеспечивает доставки в дистальный канал позвоночника. В некоторых вариантах воплощения инtrateкальное введение осуществляют в отделы позвоночника L5-L6, L4-L5, L3-L4, L2-L3 и/или L2-S1.

#### Составы для ИТ доставки.

В некоторых вариантах воплощения желательные количества рекомбинантного фермента I2S до-



бавляют в составы, подходящие для интратекальной доставки. Особенно полезные составы способны солубилизировать высокие концентрации рекомбинантного фермента I2S, а также характеризуются улучшенной стабильностью и улучшенной переносимостью при интратекальном введении в ЦНС субъекта, нуждающегося в этом. При использовании здесь, термин "растворимый" по отношению к рекомбинантному ферменту I2S относится к способности рекомбинантного фермента I2S образовывать однородный раствор.

Таким образом, подходящие составы для интратекального введения могут содержать рекомбинантный фермент I2S в различных концентрациях. В некоторых вариантах воплощения подходящие составы могут содержать рекомбинантный фермент I2S в концентрации приблизительно до 300 мг/мл (например, приблизительно до 250 мг/мл, приблизительно до 200 мг/мл, приблизительно до 150 мг/мл, приблизительно до 100 мг/мл, приблизительно до 90 мг/мл, приблизительно до 80 мг/мл, приблизительно до 70 мг/мл, приблизительно до 60 мг/мл, приблизительно до 50 мг/мл, приблизительно до 40 мг/мл, приблизительно до 30 мг/мл, приблизительно до 25 мг/мл, приблизительно до 20 мг/мл, приблизительно до 10 мг/мл). В некоторых вариантах воплощения подходящие составы могут содержать рекомбинантный фермент I2S в диапазоне концентраций приблизительно 0-300 мг/мл (например, приблизительно 1-250 мг/мл, приблизительно 1-200 мг/мл, приблизительно 1-150 мг/мл, приблизительно 1-100 мг/мл, приблизительно 10-100 мг/мл, приблизительно 10-80 мг/мл, приблизительно 10-70 мг/мл, приблизительно 1-60 мг/мл, приблизительно 1-50 мг/мл, приблизительно 10-150 мг/мл, приблизительно 1-30 мг/мл). В некоторых вариантах воплощения составы, пригодные для интратекальной доставки, могут содержать рекомбинантный фермент I2S в концентрации приблизительно 1, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250 или 300 мг/мл.

В некоторых вариантах воплощения применяют изотонические растворы. В некоторых вариантах воплощения слегка гипертонические растворы (например, до 300 мМ (например, до 250, 200, 175, 150, 125 мМ) хлорида натрия в 5 мМ фосфате натрия при pH 7,0) и сахаросодержащие растворы (например, до 3% (например, до 2,4; 2,0; 1,5; 1,0%) сахарозы в 5 мМ фосфате натрия при pH 7,0) демонстрировали хорошую переносимость у обезьян. В некоторых вариантах воплощения подходящий болюсный состав для доставки в ЦНС представляет собой физиологический раствор (например, 150 мМ NaCl в воде). В качестве неограничивающих примеров в табл. 2 ниже перечислены типичные pH и вспомогательные вещества для поддержания растворимости и стабильности рекомбинантного I2S в составе для интратекального введения.

Таблица 2

Типичные pH и вспомогательные вещества

Параметр	Типичный диапазон/тип	Обоснование
pH	4 - 8,0	Для стабилизации
		Иногда также для растворимости
Тип буфера	ацетат, сукцинат, цитрат, гистидин, фосфат или трис	Для поддержания оптимального pH
		Может также влиять на стабилизацию
Концентрация буфера	5-50 мМ	Для поддержания pH
		Может также стабилизировать и добавлять ионную силу
Регулятор тоничности	NaCl, сахара, маннит	Для создания изотонического или изотонического растворов
Поверхностно-активное вещество	Полисорбат 20, полисорбат 80	Для придания устойчивости к поверхности раздела и при сдвиге
Другие	Аминокислоты (например, аргинин), от десятков до сотен мМ	Для увеличения растворимости или стабильности

В некоторых вариантах воплощения составы, в соответствии с настоящим изобретением, содержат количество буфера, достаточное для поддержания оптимального pH указанного состава в диапазоне приблизительно 4,0-8,0, приблизительно 5,0-7,5, приблизительно 5,5-7,0, приблизительно 6,0-7,0 и приблизительно 6,0-7,5. Подходящие буферные агенты включают, например, ацетат, сукцинат, цитрат, фосфат, другие органические кислоты и трис(гидроксиэтил)аминометан ("Трис"). Подходящие концентрации буфера могут составлять от приблизительно 1 мМ до приблизительно 100 мМ, от приблизительно 1 мМ

до приблизительно 50 мМ или от приблизительно 3 мМ до приблизительно 20 мМ, в зависимости, например, от буфера и желательной изотоничности состава. В некоторых вариантах воплощения подходящий буферный агент присутствует в концентрации приблизительно 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 мМ. В конкретных вариантах воплощения состав, подходящий для настоящего изобретения, содержит менее чем приблизительно 50 мМ (например, менее чем приблизительно 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 или 5 мМ) фосфата (например, фосфата натрия).

В некоторых вариантах воплощения составы содержат изотонический агент для поддержания изотоничности состава. По отношению к ИТ доставке "изотонический" означает, что рассматриваемый состав обладает практически такой же осмолярностью, как и СМЖ человека. Осмолярность изотонических составов в основном составляет от 240 мосмоль/кг до 350 мосмоль/кг. Изотоничность можно измерить с помощью, например, осмометров на основе давления паров или точки замораживания. Примеры изотонических агентов, включают глицин, сорбит, маннит, хлорид натрия и аргинин, но не ограничиваются ими. В некоторых вариантах воплощения подходящие изотонические агенты могут присутствовать в составах в концентрации приблизительно 0,01-5% (например, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,75, 1,0, 1,25, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 4,0 или 5,0%) по массе.

В некоторых вариантах воплощения составы могут содержать стабилизирующий агент для защиты белка. Как правило, подходящим стабилизирующим агентом является невосстанавливающий сахар, например, сахароза, раффиноза, трегалоза, или аминокислота, например, глицин, аргинин и метионин. Количество стабилизирующего агента в составе, как правило, является таким, что состав является изотоническим. Тем не менее, гипертонические составы также могут быть пригодны для применения. Кроме того, количество стабилизирующего агента не должно быть слишком низким во избежание неприемлемого количества разложения/агрегации терапевтического агента. Типичные концентрации стабилизирующего агента в составе могут варьировать от приблизительно 1 мМ до приблизительно 400 мМ (например, от приблизительно 30 мМ до приблизительно 300 мМ и от приблизительно 50 мМ до приблизительно 100 мМ) или, в качестве альтернативы, от 0,1 до 15% (например, от 1 до 10%, от 5 до 15%, от 5 до 10%) по массе. В некоторых вариантах воплощения отношение массового количества стабилизирующего агента и терапевтического агента составляет приблизительно 1:1. В других вариантах воплощения соотношение массового количества стабилизирующего агента и терапевтического агента может составлять приблизительно 0,1:1, 0,2:1, 0,25:1, 0,4:1, 0,5:1, 1:1, 2:1, 2,6:1, 3:1, 4:1, 5:1, 10:1 или 20:1. В некоторых вариантах воплощения, подходящих для лиофилизации, стабилизирующий агент также является лиопротектором. В некоторых вариантах воплощения желательно добавление поверхностно-активного вещества в составы. Типичные поверхностно-активные вещества включают неионогенные поверхностно-активные вещества, например, полисорбаты (например, полисорбат 20 или 80); полуксамеры (например, полуксамер 188); тритон; додецилсульфат натрия (SDS); лаурилсульфат натрия; октилглицозид натрия; лаурил-, миристил-, линолеил- или стеарилсульфобетаин; лаурил-, миристил-, линолеил- или стеарилсаркозин; линолеил-, миристил- или цетилбетаин; лауроамидопропил-, кокаמידопропил-, линолеамидопропил-, миристамидопропил-, пальмидопропил- или изостеарамидопропилбетаин (например, лауроамидопропил); миристарамидопропил-, пальмидопропил- или изостеарамидопропилдиметиламин; натрия метилкокоил- или динатрия метилолеилтаурат и ПАВ серии MONAQUAT™ (Mona Industries, Inc, Патерсон, штат Нью-Джерси, США), полиэтиленгликоль, полипропиленгликоль и сополимеры этилен- и пропиленгликоля (например, Pluronic, PF68 и т.д.). Как правило, поверхностно-активное вещество добавляют в количестве, снижающем агрегацию белка и минимизирующем образование частиц или вспенивание. Например, поверхностно-активное вещество может присутствовать в составе в концентрации приблизительно 0,001-0,5% (например, приблизительно 0,001-0,04%, приблизительно 0,001-0,03%, приблизительно 0,001-0,02%, приблизительно 0,001-0,01%, приблизительно 0,001-0,008%, приблизительно 0,001-0,006%, приблизительно 0,001-0,004%, приблизительно 0,005-0,05% или 0,005-0,01%). В частности, поверхностно-активное вещество может присутствовать в составе в концентрации приблизительно 0,001, 0,002, 0,003, 0,004, 0,005, 0,006, 0,007, 0,008, 0,009, 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 или 0,5% и т.д. В некоторых вариантах воплощения подходящие составы могут дополнительно включать один или более наполнителей, в частности, для лиофилизированных составов. "Наполнитель" представляет собой соединение, придающее массу лиофилизированной смеси и участвующее в формировании физической структуры лиофилизированной таблетки. Например, наполнитель может улучшать внешний вид лиофилизированной таблетки (например, практически однородной лиофилизированной таблетки). Подходящие наполнители включают хлорид натрия, лактозу, маннит, глицин, сахарозу, трегалозу, гидроксипропилкрахмал, но не ограничиваются ими. Типичные концентрации наполнителей составляют от приблизительно 1% до приблизительно 10% (например, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5, 9,0, 9,5 и 10,0%).

Составы в соответствии с настоящим изобретением можно оценивать на основании анализа качества продукта, времени восстановления (если состав лиофилизирован), качества восстановления (если состав лиофилизирован), высокой молекулярной массы, влажности и температуры стеклования. Как правило, анализ качества белка и продукта включает анализ скорости разрушения продукта с помощью способов, включающих эксклюзионную ВЭЖХ (SE-HPLC), катионообменную ВЭЖХ (CEX-HPLC), рентге-

новскую дифракцию (РД), модулируемую дифференциальную сканирующую калориметрию (mDSC), обращенно-фазную ВЭЖХ (ОФ-ВЭЖХ), многоугловое светорассеяние (MALS), флуоресценцию, поглощение в ультрафиолете, нефелометрию, капиллярный электрофорез (КЭ), электрофорез в ДСН-ПААГ и их комбинации, но не ограничивается ими. В некоторых вариантах воплощения оценка продукта в соответствии с настоящим изобретением может включать этап оценки внешнего вида (внешнего вида жидкости или таблетки).

Как правило, составы (лиофилизированные или водные) могут храниться в течение длительного времени при комнатной температуре. Температура хранения, как правило, может колебаться от 0°C до 45°C (например, 4, 20, 25, 45°C и т.д.). Составы могут храниться в течение периода от нескольких месяцев до нескольких лет. Срок хранения, как правило, составляет 24 месяца, 12 месяцев, 6 месяцев, 4,5 месяца, 3 месяца, 2 месяца или 1 месяц. Составы могут храниться непосредственно в контейнере, применяемом для введения, что позволяет исключить этапы переноса. Составы могут храниться непосредственно в лиофилизационном контейнере (если они лиофилизированы), который может функционировать в качестве сосуда для восстановления, что позволяет исключить этапы переноса. Кроме того, лиофилизированный лекарственный состав можно распределить на более мелкие партии для хранения. В процессе хранения, в целом, необходимо избегать воздействий, которые приводят к разрушению белков, в том числе, без ограничений, воздействия солнечных лучей, ультрафиолетового излучения и других форм электромагнитного излучения, чрезмерного тепла или холода, быстрого теплового шока и механического шока. В некоторых вариантах воплощения составы в соответствии с настоящим изобретением находятся в жидкой или водной форме. В некоторых вариантах воплощения составы в соответствии с настоящим изобретением лиофилизированы. Подобные лиофилизированные составы можно восстановить путем добавления одного или более разбавителей перед введением субъекту. Подходящие разбавители включают стерильную воду, бактериостатическую воду для инъекций и стерильный физиологический раствор, но не ограничиваются ими. В предпочтительном варианте при восстановлении терапевтический агент, содержащийся в составе, является стабильным, растворимым и демонстрирует переносимость при введении субъекту.

Подходящие составы оценивают по их переносимости. При использовании здесь, термины "переносимый" и "переносимость" относятся к способности состава не вызывать нежелательной реакции, в частности, не вызывать серьезной нежелательной реакции у субъекта, которому вводят такой состав. В некоторых вариантах воплощения особенно полезный состав, согласно настоящему изобретению, хорошо переносится субъектом, которому вводят такой состав.

Дополнительные типичные составы, подходящие для интратекальной доставки рекомбинантного фермента I2S, описаны в международной заявке WO 2011/163649 под названием "METHODS AND COMPOSITIONS FOR CNS DELIVERY OF  $\alpha$ URONATE-2-SULFATASE (Способы и композиции для доставки идуонат-2-сульфатазы в ЦНС)", содержание которой включено сюда посредством ссылки.

Схема приема.

Как правило, терапевтически эффективное количество рекомбинантной I2S вводят в рамках схемы приема, которая может включать множественный прием стандартных доз. Схема приема, подходящая для любого конкретного пациента, может зависеть от различных факторов, в том числе от расстройства, поддаваемого лечению, и тяжести расстройства; возраста, массы тела, общего состояния здоровья, пола и рациона пациента; времени введения и/или скорости выведения или метаболизма; продолжительности лечения; и других подобных факторов, хорошо известных специалистам в области медицины.

Стандартную дозу, используемую в схеме приема, также называют терапевтически эффективной дозой. Терапевтически эффективную дозу можно определить различными способами. Например, терапевтически эффективную дозу можно определить по общему количеству рекомбинантного фермента I2S, вводимого каждый раз. Так, в некоторых вариантах воплощения терапевтически эффективная доза, согласно настоящему изобретению, составляет или превышает приблизительно 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 мг на дозу. В конкретных вариантах воплощения терапевтически эффективная доза составляет или превышает приблизительно 10 мг на дозу. В конкретных вариантах воплощения терапевтически эффективная доза составляет или превышает приблизительно 30 мг на дозу. В некоторых вариантах воплощения терапевтически эффективная доза составляет менее чем приблизительно 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15 или 10 мг на дозу. В конкретных вариантах воплощения терапевтически эффективная доза составляет менее чем приблизительно 30 мг на дозу. В некоторых вариантах воплощения терапевтически эффективная доза находится в диапазоне приблизительно 1-100 мг, приблизительно 5-100 мг, приблизительно 5-90 мг, приблизительно 5-80 мг, приблизительно 5-70 мг, приблизительно 5-60 мг, приблизительно 5-60 мг, приблизительно 10-100 мг, приблизительно 10-90 мг, приблизительно 10-80 мг, приблизительно 10-70 мг, приблизительно 10-60 мг или приблизительно 10-50 мг.

В качестве альтернативы, терапевтически эффективную дозу можно определить по количеству вводимого рекомбинантного фермента I2S по отношению к массе головного мозга. В некоторых вариантах воплощения терапевтически эффективная доза, согласно настоящему изобретению, находится в диапазо-

не от приблизительно 0,005 мг/кг массы головного мозга до 500 мг/кг массы головного мозга, например, от приблизительно 0,005 мг/кг массы головного мозга до 400 мг/кг массы головного мозга, от приблизительно 0,005 мг/кг массы головного мозга до 300 мг/кг массы головного мозга, приблизительно от 0,005 мг/кг массы головного мозга до 200 мг/кг массы головного мозга, приблизительно от 0,005 мг/кг массы головного мозга до 100 мг/кг массы головного мозга, приблизительно от 0,005 мг/кг массы головного мозга до 90 мг/кг массы головного мозга, приблизительно от 0,005 мг/кг массы головного мозга до 80 мг/кг массы головного мозга, приблизительно от 0,005 мг/кг массы головного мозга до 70 мг/кг массы головного мозга, приблизительно от 0,005 мг/кг массы головного мозга до 60 мг/кг массы головного мозга, приблизительно от 0,005 мг/кг массы головного мозга до 50 мг/кг массы головного мозга, приблизительно от 0,005 мг/кг массы головного мозга до 40 мг/кг массы головного мозга, приблизительно от 0,005 мг/кг массы головного мозга до 30 мг/кг массы головного мозга, приблизительно от 0,005 мг/кг массы головного мозга до 25 мг/кг массы головного мозга, приблизительно от 0,005 мг/кг массы головного мозга до 20 мг/кг массы головного мозга, приблизительно от 0,005 мг/кг массы головного мозга до 15 мг/кг массы головного мозга, приблизительно от 0,005 мг/кг массы головного мозга до 10 мг/кг массы головного мозга.

В некоторых вариантах воплощения терапевтически эффективная доза составляет или превышает приблизительно 0,1 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 0,5 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 1,0 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 3 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 5 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 10 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 15 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 20 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 30 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 40 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 50 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 60 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 70 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 80 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 90 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 100 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 150 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 200 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 250 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 300 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 350 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 400 мг/кг массы головного мозга, приблизительно 450 мг/кг массы головного мозга или приблизительно 500 мг/кг массы головного мозга.

В некоторых вариантах воплощения терапевтически эффективную дозу также можно корректировать в зависимости от возраста или массы тела, особенно у детей до 3 лет. Как должно быть очевидно специалисту в данной области техники, масса головного мозга, быстро меняющаяся в течение первых 3 лет жизни, достигая после этого постоянного значения, и масса тела могут коррелировать у детей младшего возраста. См. Dekaban AS. "Changes in brain weights during the span of human life: relation of brain weights to body heights and body weights," *Ann Neurol* 1978; 4:345-56. Таким образом, для детей младше 3 лет может требоваться коррекция (обычно в сторону уменьшения) дозы по сравнению с детьми старшего возраста и взрослыми. В некоторых вариантах воплощения дозировки, используемые у детей младшего возраста, можно корректировать в соответствии с руководством по коррекции дозы на основании массы головного мозга у детей младшего возраста, приведенным ниже (см. табл. 3).

Изменения массы головного мозга во время раннего развития человека

Возрастная группа	Возраст (лет)	Кол-во головных мозгов	Масса головного мозга (кг)				Высота тела (м)				Масса тела (кг)			
			Среднее	SE	изменение <sup>а</sup>	%	Среднее	SE	изменение <sup>а</sup>	%	Среднее	SE	изменение <sup>а</sup>	%
1	НР (0-10 д)	241	0,38	0,09	0,00	...	0,50	0,05	0,00	...	2,95	0,47	0,03	...
2	0,5 (4-8 мес.)	87	0,64	0,16	0,01	66,8	0,59	0,09	0,01	18,6	5,88	3,06	0,32	99,4
3	1 (9-18 мес.)	33	0,97	0,16	0,02	50,6	0,76	0,11	0,02	28,5	9,47	2,37	0,41	61,2
4	2 (19-30 мес.)	53	1,12	0,20	0,02	16,2	0,85	0,12	0,01	11,7	13,20	3,37	0,49	39,3
5	3 (31-43 мес.)	19	1,27	0,21	0,04	12,8	0,94	0,09	0,02	11,0	15,55	3,43	0,78	17,9
6	4-5	29	1,30	0,02	0,00	2,3	1,06	0,03	0,00	12,8	19,46	1,21	0,22	25,1

В некоторых вариантах воплощения терапевтически эффективные дозы также можно определить в мг/15 см<sup>3</sup> СМЖ. Как должно быть очевидно специалисту в данной области техники, терапевтически эффективные дозы, рассчитанные на основании массы головного мозга и массы тела, можно перевести в мг/15 см<sup>3</sup> СМЖ. Например, объем СМЖ у взрослого человека составляет приблизительно 150 мл (Johanson CE, et al. "Multiplicity of cerebrospinal fluid functions: New challenges in health and disease," Cerebrospinal Fluid Res. 2008 May 14;5:10). Таким образом, однократная инъекция от 0,1 мг до 50 мг белка для взрослого человека будет составлять дозу приблизительно от 0,01 мг/15 см<sup>3</sup> СМЖ (0,1 мг) до 5,0 мг/15 см<sup>3</sup> СМЖ (50 мг) для взрослого.

Рекомбинантные ферменты I2S можно вводить на регулярной основе. В некоторых вариантах воплощения терапевтически эффективную дозу можно интратекально периодически вводить через равные промежутки времени, например, раз в год, раз в шесть месяцев (или два раза в год), раз в пять месяцев, раз в четыре месяца, раз в три месяца, каждые два месяца (раз в два месяца), ежемесячно (раз в месяц или раз в четыре недели), раз в три недели, каждые две недели (раз в две недели), еженедельно (раз в неделю) или с переменным интервалом.

Интратекальное введение можно выполнять в сочетании с внутривенным введением рекомбинантного фермента I2S. В некоторых вариантах воплощения внутривенное введение рекомбинантного фермента I2S осуществляют раз в неделю. В некоторых вариантах воплощения внутривенное введение рекомбинантного фермента I2S осуществляют раз в неделю, за исключением недели, на которой осуществляют интратекальное введение. В некоторых вариантах воплощения внутривенное введение рекомбинантного фермента I2S осуществляют раз в две недели, раз в три недели, раз в месяц (раз в четыре недели), два раза в месяц, раз в два, три, четыре, пять или шесть месяцев. В некоторых вариантах воплощения внутривенное введение рекомбинантного фермента I2S осуществляют в дозе приблизительно 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 или 1,0 мг/кг массы тела. В некоторых вариантах воплощения внутривенное введение рекомбинантного фермента I2S осуществляют в дозе приблизительно 0,5 мг/кг массы тела.

Устройство для интратекального введения.

Для интратекальной доставки в соответствии с настоящим изобретением можно применять различные устройства. В некоторых вариантах воплощения устройство для интратекального введения содержит порт ввода жидкости (например, инъекционный порт); полую деталь (например, катетер), имеющую первое отверстие для жидкости, сообщающееся посредством текучей среды с входным портом для жидкости, и второе отверстие для жидкости, предназначенное для введения в спинной мозг; а также блокирующий механизм для блокировки введения полой детали в спинной мозг. В качестве неограничивающего примера, подходящий блокирующий механизм содержит один или более выступов на поверхности полой детали и кольцо для швов, приспособляемое для установки над одним или более выступами для

предотвращения выскальзывания полый детали (например, катетера) из спинного мозга. В различных вариантах воплощения порт ввода жидкости включает резервуар. В некоторых вариантах воплощения порт ввода жидкости включает механический насос (например, инфузионный насос). В некоторых вариантах воплощения имплантированный катетер соединяют с резервуаром (например, для боллосной доставки) или с инфузионным насосом. Порт ввода жидкости может быть имплантируемым или внешним. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение можно осуществить путем люмбальной пункции (т.е. медленного боллоса) или посредством системы доставки порт-катетер (например, вливания или боллоса). В некоторых вариантах воплощения катетер вводят между пластинками поясничных позвонков и вставляют наконечник в межпозвоночное пространство до желательного уровня (как правило, L3-L4).

Однократная доза, подходящая для интратекального введения, обычно является небольшой по сравнению с внутривенным введением. Как правило, при интратекальной доставке, в соответствии с настоящим изобретением, поддерживают баланс состава СМЖ, а также внутричерепное давление субъекта. В некоторых вариантах воплощения интратекальную доставку осуществляют без удаления соответствующего количества СМЖ у субъекта. В некоторых вариантах воплощения подходящий объем однократной дозы может составлять, например, менее чем приблизительно 10, 8, 6, 5, 4, 3, 2, 1,5, 1 или 0,5 мл. В некоторых вариантах воплощения подходящий объем однократной дозы может составлять приблизительно 0,5-5 мл, 0,5-4 мл, 0,5-3 мл, 0,5-2 мл, 0,5-1 мл, 1-3 мл, 1-5 мл, 1,5-3 мл, 1-4 мл или 0,5-1,5 мл. В некоторых вариантах воплощения интратекальная доставка, в соответствии с настоящим изобретением, включает предварительный этап удаления желательного количества СМЖ. В некоторых вариантах воплощения перед ИТ введением сначала удаляют менее 10 мл (например, менее 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 мл) СМЖ. В указанных случаях подходящий объем однократной дозы может составлять, например, более чем приблизительно 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 или 20 мл. Для интратекального введения терапевтической композиции можно применять различные другие устройства. Например, составы, содержащие желательные ферменты, можно вводить с помощью резервуара Оммайя, который обычно применяют для интратекального введения лекарственных средств при менингеальном карциноматозе (Lancet 2: 983-84, 1963). В частности, при этом способе вентрикулярную трубку вводят через отверстие, сформированное в переднем роге спинного мозга, и подключают к резервуару Оммайя, установленному под кожей головы, и подкожно прокалывают резервуар для интратекальной доставки замещающего фермента, который вводят в резервуар. Другие устройства для интратекального введения терапевтических композиций или составов индивиду описаны в патенте США № 6217552, включенном сюда посредством ссылки. Кроме того, лекарство можно интратекально вводить, например, путем однократной инъекции или непрерывного вливания. Следует понимать, что лечебная дозировка может быть в форме однократной дозы либо многократных доз. Для инъекции можно получить составы согласно настоящему изобретению в виде жидких растворов. Кроме того, фермент можно включить в состав в твердом виде и повторно растворять или суспендировать непосредственно перед применением. Кроме того, предусмотрено также применение лиофилизованных форм. Инъекция может быть, например, в виде боллосной инъекции или непрерывного вливания фермента (например, с использованием инфузионных насосов).

Как правило, интратекальное введение можно осуществлять посредством периодического или непрерывного доступа к имплантированному устройству интратекальной доставки лекарственных препаратов (IDDD). В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение осуществляют посредством непрерывного доступа к имплантированному IDDD, например, в течение более чем 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5 или 5,0 ч. В других вариантах воплощения интратекальное введение осуществляют посредством долговременной доставки, например, "медленного высвобождения" рекомбинантного I2S фермента в организм субъекта в течение по меньшей мере одного, двух, трех, четырех, пяти, шести дней или одной, двух, трех, четырех недель или более продолжительного времени.

При использовании здесь, термин "долговременная доставка" относится к непрерывной доставке фармацевтического состава согласно настоящему изобретению *in vivo* в течение продолжительного периода времени после введения, например, по меньшей мере нескольких дней, недели или нескольких недель. Долговременная доставка композиции может приводить, например, к непрерывному терапевтическому эффекту фермента в течение продолжительного периода времени (например, долговременная доставка фермента может приводить к непрерывному уменьшению количества накопленных гранул у субъекта). Кроме того, непрерывная доставка фермента может приводить к обнаружению присутствия фермента *in vivo* в течение продолжительного периода времени.

Иммунологическая толерантность.

Как правило, интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S, в соответствии с настоящим изобретением, не вызывает тяжелых нежелательных эффектов у субъекта. В настоящем изобретении тяжелые нежелательные эффекты включают выраженный иммунный ответ, токсичность или смерть, но не ограничиваются ими. При использовании здесь термин "выраженный иммунный ответ" относится к тяжелым или серьезным формам иммунных ответов, например, адаптивному Т-клеточному иммунному ответу. Таким образом, во многих вариантах воплощения способы в соответствии с настоящим изобретением не включают сопутствующей иммуноподавляющей терапии (т.е. любой иммуноподавляющей

терапии, применяемой в качестве предварительного лечения/предварительной обработки или параллельно способу согласно настоящему изобретению). В некоторых вариантах воплощения способы согласно настоящему изобретению не включают индукции иммунной толерантности у субъекта, подвергаемого лечению. В некоторых вариантах воплощения способы в соответствии с настоящим изобретением не включают предварительного лечения или предварительной обработки субъекта с применением иммунодепрессантов Т-клеточного ответа.

В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение терапевтических агентов может вызвать иммунный ответ против указанных агентов. Таким образом, в некоторых вариантах воплощения может быть полезно вызвать у субъекта, получающего замещающий фермент, толерантность к заместительной ферментной терапии. Иммунологическую толерантность можно индуцировать с помощью различных способов, известных в данной области техники. Например, можно использовать схему с начальным 30-60-дневным приемом иммунодепрессанта Т-клеточного ответа, например, циклоспорина А (CsA), и антипролиферативного агента, например, азатиоприна (Aza), в сочетании с еженедельными интратекальными вливаниями малых доз желательного замещающего фермента.

При комбинированной терапии согласно настоящему изобретению можно применять любой иммунодепрессант, известный специалистам в данной области техники. Такие иммунодепрессанты включают циклоспорин, FK506, рапамицин, CTLA4-Ig и антагонисты ФНО, например, этанерцепт, но не ограничиваются ими (см., например, Moder, 2000, *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 84, 280-284; Nevins, 2000, *Curr. Opin. Pediatr.* 12, 146-150; Kurlberg et al., 2000, *Scand. J. Immunol.* 51, 224-230; Ideguchi et al., 2000, *Neuroscience* 95, 217-226; Potteret et al., 1999, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 875, 159-174; Slavik et al., 1999, *Immunol. Res.* 19, 1-24; Gaziev et al., 1999, *Bone Marrow Transplant.* 25, 689-696; Henry, 1999, *Clin. Transplant.* 13, 209-220; Gummert et al., 1999, *J. Am. Soc. Nephrol.* 10, 1366-1380; Qi et al., 2000, *Transplantation* 69, 1275-1283). В качестве иммунодепрессантов также можно применять антитело к рецептору IL2 (альфа-субъединице) - даклизумаб (например, Zenarax.TM.), эффективность которого продемонстрирована у пациентов после трансплантации (см., например, Wiseman et al., 1999, *Drugs* 58, 1029-1042; Beniaminovitz et al., 2000, *N. Engl. J. Med.* 342, 613-619; Ponticelli et al., 1999, *Drugs R. D.* 1, 55-60; Berard et al., 1999, *Pharmacotherapy* 19, 1127-1137; Eckhoff et al., 2000, *Transplantation* 69, 1867-1872; Ekberg et al., 2000, *Transpl. Int.* 13, 151-159). Дополнительные иммунодепрессанты включают лиганды против CD2 (Branco et al., 1999, *Transplantation* 68, 1588-1596; Przepiora et al., 1998, *Blood* 92, 4066-4071), против CD4 (Marinova-Mutafchieva et al., 2000, *Arthritis Rheum.* 43, 638-644; Fishwild et al., 1999, *Clin. Immunol.* 92, 138-152) и против CD40 (Hong et al., 2000, *Semin. Nephrol.* 20, 108-125; Chirmule et al., 2000, *J. Virol.* 74, 3345-3352; Ito et al., 2000, *J. Immunol.* 164, 1230-1235), но не ограничиваются ими.

Фармакокинетика, фармакодинамика и биодоступность.

В числе прочего, рекомбинантная I2S при интратекальной доставке демонстрирует превосходную фармакокинетику, фармакодинамику и биодоступность у пациента-человека. Оценку профилей "концентрация I2S в СМЖ - время" можно выполнить непосредственно путем пробоотбора СМЖ или косвенно путем измерения системных профилей "концентрация I2S в сыворотке - время". Тем не менее, как правило, ввиду ограниченного количества клинически допустимых образцов СМЖ, фармакокинетические и фармакодинамические профили I2S оценивают косвенно путем периодического пробоотбора крови. Следующие стандартные сокращения и термины применяются для представления связанных с ними фармакокинетических параметров.  $PPK_{inf}$  - Площадь под кривой концентрации в плазме в зависимости от времени, вплоть до последней измеримой концентрации, плюс  $PPK$ , рассчитанная по линейной формуле трапеций от нулевого момента времени до последней концентрации, поддающейся количественной оценке, и экстраполированная от последней измеримой концентрации ( $C_{last}$  в момент  $t_{last}$ ) до бесконечности:  $PPK_{INFobs} = PPK_{0-tlast} + C_{last}/\lambda z$  (где  $\lambda z$  является константой скорости первого порядка, ассоциированной с концевым (логлинейным) фрагментом кривой).

$PPK_{0-12}$  - площадь под кривой между моментом приема и моментом 12 ч,

$PPK_{0-24}$  - площадь под кривой между моментом приема и моментом 24 ч,

$PPK_{ss}$  - воздействие в равновесном состоянии в интервале между приемами F Доступная фракция (биодоступность):

$$F = [PPK_{и/о}] \text{ доза}_{в/в} / [PPK_{в/в}] \text{ доза}_{и/о}$$

CL - клиренс,

CL<sub>r</sub> - почечный клиренс, рассчитанный для 24-часового равновесного периода согласно

$$CL_r = \frac{Ue(0-24)}{AUC(0-24)}$$

где Ue является выделенным лекарством,

CL/F - кажущийся общий клиренс организма в зависимости от биодоступности

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

$V_{ss}$  - равновесный объем распределения,

$V_d$  - объем распределения,

$V_z/F$  - кажущийся объем распределения в терминальной фазе в зависимости от биодоступности

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

$t_{1/2}$  - конечный период полувыведения ( $HL_{\lambda_z}$ ), рассчитанный по уравнению  $t_{1/2} = 0,693/k_{el}$ .

$C_{\text{макс}}$  - максимальная наблюдаемая концентрация, получаемая непосредственно из профиля "концентрация в плазме - время".

$T_{\text{макс}}$  - время  $C_{\text{макс}}$ ; при наличии более чем одного момента выбирают первый из них  $\lambda_z$  константа скорости выведения, рассчитывается как отрицательное значение наклона конечного логлинейного сегмента кривой концентрации в плазме в зависимости от времени, где наклон определяют путем линейной регрессии зависимости натурального логарифма конечной концентрации в плазме от времени; для определения  $\lambda_z$  необходимо выбрать по меньшей мере 3 момента, соответствующие конечным концентрациям в плазме, начиная с конечной концентрации  $\geq$  ПКО, и необходим коэффициент детерминации регрессии ( $r^2$ )  $\geq 0,9000$ .

$k_{el}$  - константа конечной скорости выведения, получаемая на основании наклона линии, аппроксимированной путем линейной регрессии методом наименьших квадратов, через конечные точки профилей "натуральный логарифм концентрации - время".

Как правило, для анализа ИТ ФК используют фактическое время пробоотбора крови по отношению к началу интратекального введения I2S. Например, отбор образцов крови обычно выполняют за 15 или 30 мин перед интратекальным введением I2S (исходный уровень перед инъекцией или время 0) и через 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120, 132, 144, 156, 168 или 180 ч после интратекального введения. Если интратекальное введение выполняют в сочетании с в/в введением, отбор образцов крови для анализа в/в ФК обычно выполняют за 15 или 30 мин перед в/в вливанием (исходный уровень перед вливанием или время 0) и в моменты 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 и 3 ч во время вливания (если вливание продолжается 3 ч) и через 3,5, 4, 5, 6, 7, 9, 11 и 24 ч после начала в/в вливания.

Для измерения концентрации белка I2S в сыворотке можно применять различные способы. В качестве неограничивающего примера, применяют твердофазный иммуноферментный анализ (твердофазный ИФА).

Фармакокинетические параметры для I2S можно определить, используя способы компартментного, некомпартментного или популяционного (т.е. POP-PR) анализа, известные в данной области техники. В некоторых вариантах воплощения фармакокинетические параметры для I2S определяют путем некомпартментного анализа с помощью Phoenix версии 6,1 (Pharsight Corporation, Маунтин-Вью, штат Калифорния, США).

Фармакокинетические параметры можно оценить на любом этапе лечения, например, на неделе 1, неделе 2, неделе 3, неделе 4, неделе 5, неделе 6, неделе 7, неделе 8, неделе 9, неделе 10, неделе 11, неделе 12, неделе 13, неделе 14, неделе 15, неделе 16, неделе 17, неделе 18, неделе 19, неделе 20, неделе 21, неделе 22, неделе 23, неделе 24 или позже. В некоторых вариантах воплощения фармакокинетические параметры можно оценить в месяце 1, месяце 2, месяце 3, месяце 4, месяце 5, месяце 6, месяце 7, месяце 8, месяце 9, месяце 10, месяце 11, месяце 12, месяце 13, месяце 14, месяце 15, месяце 16, месяце 17, месяце 18, месяце 19, месяце 20, месяце 21, месяце 22, месяце 23, месяце 24 или позже во время лечения.

Обычно, как описано в разделе "Примеры", после интратекального введения концентрация I2S в сыворотке медленно увеличивается.

В некоторых вариантах воплощения системная биодоступность I2S после интратекального введения находится в интервале приблизительно 20-90% (например, приблизительно 20-80, 20-75, 20-70, 20-65, 20-60, 20-55, 20-50, 30-90, 30-80, 30-75, 30-70, 30-65, 30-60, 30-55, 30-50, 40-90, 40-80, 40-75, 40-70, 40-65, 40-60, 40-55, 40-50, 50-90, 50-80, 50-75, 50-70, 50-65, 50-60%). В некоторых вариантах воплощения системная биодоступность I2S после интратекального введения составляет или превышает приблизительно 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85 или 90%. В некоторых вариантах воплощения различные схемы приема, описанные здесь (т.е. терапевтически эффективная доза, регулярно вводимая с определенным интервалом), приводят к ППК<sub>ss</sub> рекомбинантного фермента I2S в сыворотке в диапазоне от приблизительно 200000 мин нг/мл до приблизительно 1000000 мин нг/мл (например, от приблизительно 250000 мин нг/мл до приблизительно 900000 мин нг/мл, от приблизительно 300000 мин нг/мл до приблизительно 800000 мин нг/мл, от приблизительно 350000 мин нг/мл до приблизительно 700000 мин нг/мл, от приблизительно 400000 мин нг/мл до приблизительно 600000 мин нг/мл). В некоторых вариантах воплощения различные схемы приема, описанные здесь (т.е. терапевтически эффективная доза, регулярно вводимая с определенным интервалом), приводят к максимальной концентрации ( $C_{\text{макс}}$ ) рекомбинантного фермента I2S в сыворотке в диапазоне от приблизительно 60 до приблизительно 300 нг/мл (например, от приблизительно 70 до приблизительно 250 нг/мл, от приблизительно 70 до приблизительно 200 нг/мл, от приблизительно 70 до приблизительно 150 нг/мл, от приблизительно 80 до приблизительно 250 нг/мл, от приблизительно 80 до приблизительно 200 нг/мл, от приблизительно 80 до приблизительно 150 нг/мл, от приблизительно 90 до приблизительно 250 нг/мл, от приблизительно 90 до приблизительно



200 нг/мл, от приблизительно 90 до приблизительно 150 нг/мл).

Снижение уровней ГАГ.

Как описано выше, синдром Хантера, или мукополисахаридоз II (MPS II), является X-сцепленным наследственным метаболическим расстройством, обусловленным недостаточностью фермента идуронат-2-сульфатазы (I2S). I2S локализуется в лизосомах и играет важную роль в катаболизме гликозаминогликанов (ГАГ)-гепаран- и дерматансульфата. В отсутствие фермента эти субстраты накапливаются в клетках, в конечном счете вызывая застойные явления, а затем гибель клеток и разрушение тканей. В связи с распространенной экспрессией фермента у пациентов с MPS II поражаются различные типы клеток, органов и систем.

Таким образом, синдром Хантера характеризуется накоплением гликозаминогликанов (ГАГ) в лизосомах пораженных клеток, включая как соматические клетки, так и клетки ЦНС. У пациентов, страдающих или подверженных синдрому Хантера, наблюдаются аномально высокие уровни ГАГ в СМЖ, моче и/или крови. Например, для мочи, диапазон нормальных значений уровня ГАГ в моче в зависимости от возраста колеблется между 57 и 487 мкг/мг креатинина. Однако у пациентов с синдромом Хантера, не получающих лечения, может быть высокий уровень ГАГ в моче, например, выше приблизительно 1000 мкг/мг креатинина, 1050 мкг/мг креатинина, 1100 мкг/мг креатинина, 1150 мкг/мг креатинина, 1200 мкг/мг креатинина, 1250 мкг/мг креатинина, 1300 мкг/мг креатинина, 1350 мкг/мг креатинина, 1400 мкг/мг креатинина, 1450 мкг/мг креатинина или 1500 мкг/мг креатинина.

У пациентов с синдромом Хантера и когнитивными нарушениями, как правило, также наблюдаются аномально высокие уровни ГАГ в СМЖ. Например, уровень ГАГ в СМЖ здоровых детей, как правило, ниже нижнего предела количественного определения (НПКО), а у молодых здоровых взрослых людей уровень ГАГ в СМЖ, как правило, находится от величин ниже НПКО до приблизительно 95 нг/мл. Однако у пациентов с синдромом Хантера исходный измеренный уровень ГАГ в СМЖ до лечения может составлять более чем приблизительно 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500 или 2000 нг/мл.

Таким образом, изменения концентрации ГАГ в моче, крови и/или СМЖ по сравнению с исходным уровнем можно применять в качестве биомаркера, указывающего на фармакодинамическую активность и/или эффективность I2S *in vivo*. В частности, изменения концентрации ГАГ в СМЖ по сравнению с исходным уровнем можно применять в качестве биомаркера, указывающего на фармакодинамическую активность I2S в СМЖ после интратекального введения, или в качестве конечного показателя эффективности. Например, согласно настоящему изобретению, рекомбинантный фермент I2S вводят интратекально в терапевтически эффективной дозе и с интервалом введения в течение периода лечения, достаточных для снижения уровня гликозаминогликана (ГАГ) в спинномозговой жидкости (СМЖ) и/или моче по сравнению с контролем. При использовании здесь, термин "уменьшать" или его эквивалент, например, "снижать", или их грамматические эквиваленты указывают на измерение уровня ГАГ по сравнению с измерением исходного уровня, например, измерением у того же самого индивида до начала лечения или измерением у контрольного индивида (или нескольких контрольных индивидов) в отсутствие лечения. "Контрольный индивид" является индивидом, страдающим синдромом Хантера, как и индивид, подвергавшийся лечению, приблизительно того же возраста, что и индивид, подвергавшийся лечению (для сопоставимости этапов заболевания индивида, подвергаемого лечению, и контрольного индивида (индивидов)). В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S согласно настоящему изобретению приводит к снижению уровня ГАГ в СМЖ, моче и/или крови приблизительно на 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100% или более по сравнению с контролем (т.е. измерением в исходный момент). В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S согласно настоящему изобретению приводит к снижению уровня ГАГ в СМЖ, моче и/или крови по меньшей мере в 1 раз, 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз или 10 раз по сравнению с контролем (т.е. измерением в исходный момент).

В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S согласно настоящему изобретению приводит к уровню ГАГ в СМЖ менее чем приблизительно 1000 нг/мл (например, менее чем приблизительно 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100, 50, 10 или 1 нг/мл).

В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S согласно настоящему изобретению приводит к уровню ГАГ в моче менее чем приблизительно 1000 мкг/мг креатинина (например, менее чем приблизительно 900 мкг/мг креатинина, 800 мкг/мг креатинина, 700 мкг/мг креатинина, 600 мкг/мг креатинина или 500 мкг/мг креатинина). В данной области техники известны различные способы измерения уровней ГАГ в СМЖ или моче, которые можно применять при реализации настоящего изобретения. Типичные способы включают анализы на основе тандемной масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением (с жидкостной хроматографией и без нее), ВЭЖХ или ЖХ-МС, описанные в статье Lawrence R. et al. *Nat. Chem. Biol.*; 8(2): 197-204, но не ограничиваются ими. В некоторых вариантах воплощения уровень ГАГ измеряют в конце каждого курса приема (например, в конце каждого месяца после ежемесячного интратекального введения), т.е. непосредственно перед следующим приемом. Уровень ГАГ также можно измерять в начале или в середине каждого курса приема (например, в начале или в середине каждого месяца после ежемесячного интратекального введения).

В некоторых вариантах воплощения снижение уровня ГАГ в СМЖ, описанное здесь, достигается

после периода лечения продолжительностью по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18, 24 месяца или более. В некоторых вариантах воплощения снижение уровня ГАГ в СМЖ, описанное здесь, достигается после периода лечения продолжительностью по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 лет или более. В различных вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S можно применять для поддержания низкого уровня ГАГ в СМЖ (например, ниже приблизительно 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100, 50, 10 или 1 нг/мл) в течение более 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 месяцев или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 лет, или всей жизни пациента, подвергаемого лечению. В различных вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S можно применять для поддержания низкого уровня ГАГ в моче (например, ниже приблизительно 1000 мкг/мг креатинина, 900 мкг/мг креатинина, 800 мкг/мг креатинина, 700 мкг/мг креатинина, 600 мкг/мг креатинина или 500 мкг/мг креатинина) в течение более 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 месяцев или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 лет, или всей жизни пациента, подвергаемого лечению.

В различных вариантах воплощения уровень ГАГ в СМЖ, моче и/или крови также можно использовать в качестве биомаркера для мониторинга и/или оптимизации лечения. Например, дозу и/или интервал введения для интратекального и/или внутривенного введения (при применении интратекального введения в сочетании с внутривенным введением) можно регулировать на основании уровня ГАГ в СМЖ, моче и/или крови. В некоторых вариантах воплощения дозу для интратекального введения можно увеличить, если уровень ГАГ в СМЖ, моче или крови не уменьшается по сравнению с исходным контролем после 6, 5, 4 или 3 доз. В конкретных вариантах воплощения дозу для интратекального введения можно увеличить, если уровень ГАГ в СМЖ, моче или крови не уменьшается по сравнению с исходным контролем после 4 доз. Термины "улучшить", "увеличить" или "уменьшить" при использовании

здесь указывают на значения относительно контроля. В некоторых вариантах воплощения подходящий контроль представляет собой измерение в исходный момент времени, например, измерение у того же самого индивида до начала лечения, описанного здесь, или измерение у контрольного индивида (или нескольких контрольных индивидов) в отсутствие лечения, описанного здесь. "Контрольный индивид" представляет собой индивида, страдающего таким же заболеванием, примерно такого же возраста и/или пола, что и индивид, подвергаемый лечению (для сопоставимости этапов заболевания индивида, подвергаемого лечению, и контрольного индивида (индивидов)).

Индивид (также называемый "пациентом" или "субъектом"), подвергаемый лечению, представляет собой индивида (плод, младенца, ребенка, подростка или взрослого человека), страдающего заболеванием или подверженного вероятности развития заболевания. В некоторых вариантах воплощения возраст субъекта, подвергаемого лечению, составляет по меньшей мере 6 месяцев, 12 месяцев, 18 месяцев, 2 года, 2,5 года, 3 года, 3,5 года, 4 года, 4,5 года или 5 лет. В некоторых вариантах воплощения субъекту, подвергаемому лечению, меньше 5, 4,5, 4, 3,5, 3, 2,5, 2 или 1,5 лет. В некоторых вариантах воплощения уровень ГАГ в СМЖ субъекта, нуждающегося в лечении, до лечения составляет более чем приблизительно 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500 или 2000 нг/мл. В некоторых вариантах воплощения уровень ГАГ в моче субъекта, нуждающегося в лечении, превышает приблизительно 1000 мкг/мг креатинина, 1050 мкг/мг креатинина, 1100 мкг/мг креатинина, 1150 мкг/мг креатинина, 1200 мкг/мг креатинина, 1250 мкг/мг креатинина, 1300 мкг/мг креатинина, 1350 мкг/мг креатинина, 1400 мкг/мг креатинина, 1450 мкг/мг креатинина или 1500 мкг/мг креатинина. Для осуществления настоящего изобретения также можно применять другие биомаркеры синдрома Хантера, например, комплекс "кофактор II гепарина-тромбин", описанный в статье D. R. Randall et al., "Heparin cofactor II-thrombin complex: A biomarker of MPS disease," *Molecular Genetics and Metabolism* 94 (2008) 456-461, содержание которой включено сюда посредством ссылки.

Лечение когнитивного нарушения.

Характерной клинической особенностью синдрома Хантера является дегенерация центральной нервной системы (ЦНС), которая приводит к когнитивным нарушениям (например, снижению IQ). Кроме того, МРТ-сканирование больных выявило повреждения белого вещества, расширение периваскулярных пространств в паренхиме головного мозга, ганглиях, мозолистом теле и стволе мозга; атрофию и вентрикуломегалию (Wang et al. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2009). Болезнь обычно проявляется в первые годы жизни органомегалией и скелетными аномалиями. Некоторые больные испытывают прогрессирующую потерю когнитивных функций, причем большинство больных умирают от осложнений, связанных с заболеванием, в первом или втором десятилетии жизни.

В числе прочего, настоящее изобретение можно применять для эффективного лечения когнитивных нарушений у пациентов с синдромом Хантера. В некоторых вариантах воплощения лечение в соответствии с настоящим изобретением приводит к улучшению когнитивной деятельности у пациента, страдающего синдромом Хантера. При использовании здесь, когнитивная деятельность включает познавательные, адаптивные, моторные и/или управляющие функции, но не ограничивается ими. Таким образом, в некоторых вариантах воплощения способ согласно изобретению можно применять для улучшения, стабилизации или уменьшения снижения одной или более познавательных, адаптивных, моторных и/или управляющих функций по сравнению с контролем.

Оценка когнитивной деятельности.

Как правило, когнитивную деятельность можно оценивать с помощью инструмента для оценки когнитивной деятельности. При использовании здесь, термин "инструмент для оценки когнитивной деятельности" включает тест когнитивной деятельности, который можно применять для оценки, классификации и/или количественного определения одной или более познавательных, адаптивных, моторных и/или управляющих функций у субъекта. Как понятно для специалиста в данной области техники, такой тест может являться опросником или анкетой, заполняемой пациентом, лицом, осуществляющим уход, родителем, учителем, терапевтом или психологом. Типичные инструменты для оценки когнитивной деятельности, подходящие для оценки когнитивных, адаптивных, моторных и/или управляющих функций, описаны ниже.

Шкала дифференциальных способностей (DAS-II).

В некоторых специфических вариантах воплощения инструмент для оценки когнитивной деятельности является шкалой дифференциальных способностей. Шкала дифференциальных способностей, как следует из названия, разработана специально для пациентов с нарушениями различного типа. DAS-II является когнитивным тестом, предназначенным в первую очередь для применения в качестве профилирующего теста, позволяющего получить балльные показатели для широкого диапазона способностей, измеренных по отдельным подтестам или по их совокупности. В то же время она применяется в качестве общего теста когнитивной способности, в том числе в популяциях с серьезными заболеваниями. DAS-II включает 2 перекрывающиеся батареи. Дошкольная батарея предназначена для детей в возрасте от 2 лет 6 месяцев до 6 лет 11 месяцев. Школьная батарея предназначена для детей в возрасте от 7 лет 0 месяцев до 17 лет 11 месяцев. Ключевой особенностью указанных батарей является их полная совместная нормировка по возрасту от 5 лет 0 месяцев до 8 лет 11 месяцев. В результате детям в возрасте от 7 лет 0 месяцев до 8 лет 11 месяцев можно давать дошкольную батарею, если она считается более соответствующей развитию данного индивида, чем школьная батарея. Аналогично более способным детям в возрасте от 5 лет 0 месяцев до 6 лет 11 месяцев можно давать школьную батарею. В результате тест объединяет всех детей в возрасте от 5 до 8 лет (т.е. от 5 лет 0 месяцев до 8 лет 11 месяцев) с предельными показателями диапазона способностей.

DAS-II одобрена и нормирована по населению США и Британии (как и BAS, или британская шкала способностей). Испанская версия, предназначенная для применения в Испании и испаноязычных странах Латинской Америки, ожидается осенью 2012 года. DAS-II включает "индивидуально-ориентированное тестирование", позволяющее врачам, проводящим обследование, выбрать наиболее подходящие пункты для ребенка. Это дает два основных преимущества. Во-первых, это обеспечивает точность и высокую скорость теста, что является важным преимуществом для врача, проводящего обследование. Во-вторых, это укорачивает тестирование, делает его менее утомительным для ребенка и часто позволяет ребенку прекратить подтест до возникновения ряда последовательных отказов, это является преимуществом для ребенка, так как тесты доставляют больше удовольствия и мотивации. Не являясь ограничивающим примером, табл. 4 содержит множество подтестов, позволяющих измерять различные когнитивные способности у субъекта, подвергаемого заместительной ферментной терапии. На фиг. 19 показаны эти же субтесты и возрастные диапазоны, по которым они нормированы.

Таблица 4

Список инструментов для оценки когнитивной деятельности

Подтест	Сокращение	Измеряемые способности
Копирование	Сору	Соответствие визуального восприятия и координации тонкой моторики при копировании чертежей
Ранние понятия о числах	ENC	Знание о предчисловых и числовых понятиях

Узнавание формы букв	MLLF	Визуальное различение сходных форм
Матрицы	Mat	Невербальное мышление: восприятие и применение отношений между абстрактными рисунками
Словарь имен	NVoc	Экспрессивная речь; знание имен
Конструирование образов	PCon	Соответствие визуального восприятия, особенно пространственной ориентации, при копировании блочных образов. Невербальное мышление и пространственная визуализация при воспроизведении конструкции с цветными блоками
Конструирование образов (альт.)	PCon(A)	Аналогичные способности по конструированию образов без ограничений по времени
Фонологическая обработка	PhP	Знание звукового состава английского языка и способность манипулировать звуком
Сходство изображений	PSim	Невербальное мышление, проявляющееся в сопоставлении изображений с общим элементом или концепцией
Быстрое присваивание названий	RNam	Автоматизм интеграции визуальных символов с фонологическим присваиванием названий
Воспроизведение конструкций	RDes	Краткосрочное воспроизведение визуальных и пространственных отношений путем воспроизводства абстрактных рисунков
Воспроизведение чисел в прямом порядке	DigF	Краткосрочная слуховая память и устное воспроизведение числовых последовательностей
Воспроизведение чисел в обратном порядке	DigB	Краткосрочная слуховая память и устное воспроизведение числовых последовательностей
Воспроизведение объектов - немедленное	RObI	Краткосрочное воспроизведение вербальной и графической информации
Воспроизведение объектов - отсроченное	RObD	Среднесрочное воспроизведение вербальной и графической информации
Воспроизведение порядка последовательности	SeqO	Краткосрочное воспроизведение вербальной и графической информации
Распознавание изображений	RPic	Измерение краткосрочной невербальной зрительной памяти за счет распознавания знакомых объектов
Последовательное и количественное мышление	SQR	Обнаружение последовательностей в рисунках или цифрах
Скорость обработки информации	SIP	Быстрота выполнения простых умственных операций
Понимание речи	VCom	Восприятие речи: понимание устных инструкций, включающее основные языковые концепции
Словесное сходство	VSim	Вербальное мышление и знание речи
Значения слов	WDef	Знание значений слов, демонстрируемое с помощью разговорной речи

Шкалы независимого поведения - пересмотренные (SIB-R).

В некоторых специфических вариантах воплощения инструмент для оценки когнитивной деятельности является пересмотренными шкалами независимого поведения. Пересмотренные шкалы независимого поведения (SIB-R) являются системой оценки адаптивного поведения, включающей 14 подшкал, организованных в 4 кластера адаптивного поведения: (1) Моторные навыки, (2) Социальное взаимодействие/общение, (3) Личные бытовые навыки и (4) Навыки жизни в обществе. Для каждого элемента эксперту предоставляются формулировки, которые требуют от него оценки способностей и частоты, с которой обследуемый может осуществлять или полностью осуществляет конкретную задачу без помощи или руководства. Активность индивида оценивают по 4-балльной шкале Лайкерта, причем ответы включают: (0): никогда или редко - даже если задаются вопросы; (1) выполняет, но не хорошо - или в приблизительно одной четверти случаев - может потребоваться вопрос; (2) делает достаточно хорошо - или в приблизительно трех четвертях случаев - может потребоваться вопрос; (3) делает очень хорошо - всегда или почти всегда - без вопросов.

Она также измеряет 8 аспектов проблемного поведения. SIB-R обеспечивает нормативы с младенчества до 80 лет и большего возраста. Она применяется у детей с аутизмом и умственной отсталостью. Некоторые эксперты считают, что одной из сильных сторон SIB-R является то, что она находит применение для оценки основных адаптивных навыков и проблемного поведения детей со значительными когнитивными расстройствами или расстройствами аутистического спектра и может соотноситься с уровнями поддержки Американской ассоциации умственной отсталости. SIB-R считается гораздо менее уязвимой к преувеличениям, чем некоторые другие системы оценки адаптивного поведения.

Шкалы Бейли для оценки раннего развития детей.

В некоторых вариантах воплощения оценку функций, связанных с развитием, можно выполнять с помощью одного или более инструментов оценки развития. В некоторых вариантах воплощения инструмент для оценки развития является шкалами Бейли для оценки раннего развития детей (BSID-III). Шкалы Бейли для оценки раннего развития детей представляют собой стандартный набор измерений, используемый в основном для оценки моторики (мелкой и крупной), речи (восприятия и выражения) и когнитивного развития младенцев и детей ясельного возраста в возрасте 0-3 лет. Эта система оценки состоит из набора развивающих игровых задач, ее выполнение занимает 45-60 мин. Исходные оценки успешно завершенных элементов преобразуются в шкалированные показатели и составные показатели. Указанные показатели применяют для определения деятельности ребенка по сравнению с нормами, основанными на типичном развитии детей данного возраста (в месяцах). Данную оценку часто применяют в сочетании с опросником социально-эмоционального адаптивного поведения. Указанный опросник, заполняемый родителем или лицом, осуществляющим уход, устанавливает диапазон адаптивного поведения, достижимый для ребенка в настоящее время, и позволяет выполнить сравнение с возрастными нормами.

Шкала Векслера для оценки интеллекта у детей (WISC).

В некоторых вариантах воплощения можно осуществлять оценку согласно шкалы Векслера для оценки интеллекта у детей (WISC). Как правило, тест WISC является индивидуально выполняемым тестом интеллекта для детей, в частности, детей в возрасте от 6 до 16 лет включительно. В некоторых вариантах воплощения тест WISC можно выполнить без чтения или письма. Показатель WISC обычно отражает общие когнитивные способности ребенка.

Шкалы Вайнленда для оценки адаптивного поведения.

В некоторых вариантах воплощения выполняют оценку по шкалам.

Вайнленда для оценки адаптивного поведения. Как правило, шкалы Вайнленда для оценки адаптивного поведения измеряют адаптивный уровень функционирования человека. Как правило, содержание и масштабы шкал Вайнленда для оценки адаптивного поведения организованы в виде трех доменов: общение, повседневная жизнь и социализация. Эта структура соответствует трем широким доменам адаптивного функционирования, признанным Американской ассоциацией умственной отсталости (AAMR, 2002): концептуальному, практическому и социальному. Кроме того, шкалы Вайнленда для оценки адаптивного поведения предлагают оценку домена моторных навыков и необязательного показателя неадаптивного поведения в рамках предоставления углубленной информации.

Дополнительные типичные инструменты оценки когнитивной деятельности, подходящие для настоящего изобретения, показаны на фигурах 19 и 20.

Структурный объем головного мозга.

В дополнение к различным стандартным тестам, описанным здесь, для оценки состояния и функционирования головного мозга можно использовать структурный объем головного мозга. Например, такой анализ можно выполнить путем оценки общего объема серого вещества коры головного мозга, полученного в ходе автоматизированного анализа последовательных магнитно-резонансных томограмм (МРТ) головного мозга.

Улучшение когнитивных функций.

В различных вариантах воплощения настоящее изобретение обеспечивает способы лечения синдрома Хантера, в частности, путем улучшения когнитивной деятельности. Например, способ согласно настоящему изобретению может включать этап интратекального введения субъекту, нуждающемуся в лечении, рекомбинантного фермента идуронат-2-сульфатазы (I2S) в терапевтически эффективной дозе и

с интервалом введения в течение периода, достаточного для улучшения, стабилизации или ослабления снижения одной или более когнитивных, адаптивных, моторных и/или управляющих функций по сравнению с контролем. При использовании здесь, термины "улучшить", "стабилизировать" или "уменьшить" или их грамматические эквиваленты указывают на оценку или измерение когнитивных, адаптивных, моторных и/или управляющих функций (например, балльных показателей когнитивных тестов) по сравнению с исходной оценкой или измерением, например, с оценкой или измерением у того же самого индивида до начала лечения, описанного здесь, или с оценкой или измерением у контрольного индивида (или нескольких контрольных индивидов) в отсутствие лечения, описанного здесь. "Контрольный индивид" является индивидом, страдающим синдромом Хантера, как и индивид, подвергаемый лечению, приблизительно того же возраста, что и индивид, подвергаемый лечению (для сопоставимости этапов заболевания индивида, подвергаемого лечению, и контрольного индивида (индивидов)).

Для оценки одной или более из когнитивных, адаптивных, моторных и/или управляющих функций можно применять различные инструменты оценки когнитивных функций, включая инструменты, описанные здесь. В некоторых вариантах воплощения применяются второе издание шкал дифференциальных способностей (DAS-II). Оценка DAS-II может быть представлена исходной оценкой, кластерной оценкой, стандартизированной оценкой, процентильным возрастным эквивалентом или коэффициентом развития. В некоторых вариантах воплощения оценка DAS-II представлена балльным показателем общей концептуальной способности (GCA). В некоторых вариантах воплощения применяют III версию шкал Бейли для оценки раннего развития детей (BSID-III). В различных вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к улучшению показателя GCA или фактора развития BSID-III после периода лечения, который составляет или превышает 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 месяцев или 1, 2, 3, 4, 5, 10 лет по сравнению с контролем (т.е. исходным показателем до лечения). Например, интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S может улучшить показатель GCA или фактор развития BSID-III на 5, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30 баллов или более по сравнению с контролем (например, исходным показателем до лечения) после периода лечения, который составляет или превышает 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или 18 месяцев. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S может улучшить показатель GCA или фактор развития BSID-III на 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50% или более по сравнению с контролем (например, исходным показателем до лечения) после периода лечения, который составляет или превышает 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или 18 месяцев. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S может привести к улучшению показателя GCA или фактора развития BSID-III в пределах диапазона 70-105 (например, 70-100, 70-95, 70-90, 75-105, 75-100, 75-95, 75-90, 80-105, 80-100, 80-95, 80-90) после периода лечения, который составляет или превышает 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или 18 месяцев. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S может привести к улучшению показателя GCA или фактора развития BSID-III до величин, составляющих или превышающих 70, 75, 80, 85, 86, 87, 88, 89, 90 баллов или более после периода лечения, который составляет или превышает 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или 18 месяцев. Как правило, интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S может также поддерживать улучшенный показатель в течение периода времени, который составляет или превышает 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 или 36 месяцев. При использовании здесь, поддержание показателя GCA или фактора развития BSID-III означает изменение показателя GCA или фактора развития BSID-III менее чем на 10, 9, 8, 7, 6 или 5 баллов в течение 3, 6, 8, 10, 12 месяцев или изменение показателя GCA или фактора развития BSID-III в течение 3, 6, 8, 10, 12 месяцев в пределах 20, 15, 10, 5% от среднего изменения за такой период.

В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к стабилизации показателя GCA или фактора развития BSID-III после периода лечения, который составляет или превышает 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 месяцев или 1, 2, 3, 4, 5, 10 лет по сравнению с исходной оценкой до лечения. При использовании здесь, стабилизация показателя GCA или фактора развития BSID-III означает изменение показателя GCA или фактора развития BSID-III по сравнению с исходным уровнем менее чем на 10, 9, 8, 7, 6 или 5 баллов в течение 3, 6, 8, 10, 12 месяцев или изменение показателя GCA или фактора развития BSID-III в течение 3, 6, 8, 10, 12 месяцев в пределах 20, 15, 10, 5% от среднего изменения за такой период. В некоторых случаях стабилизация показателя GCA или фактора развития BSID-III означает изменение показателя GCA или фактора развития BSID-III менее чем на 20, 15, 10, 5% по сравнению с исходным уровнем в течение 3, 6, 8, 10, 12 месяцев. В некоторых вариантах воплощения стабилизация происходит после начального снижения показателя GCA или фактора развития BSID-III. Например, стабилизация может происходить после снижения показателя GCA или фактора развития BSID-III не менее чем на 40, 35, 30, 25, 20, 15 или 10% по сравнению с исходным уровнем. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S может стабилизировать показатель GCA или фактор развития BSID-III в течение периода времени, который составляет или превышает 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 или 36 месяцев. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S может стабилизировать показатель GCA или фактор развития BSID-III на 3-36 месяцев (например, 3-33, 3-30, 3-27, 3-24, 3-21, 3-18, 3-15, 3-12, 3-9, 3-6, 6-36, 6-33, 6-30, 6-27, 6-24, 6-21, 6-18, 6-15, 6-12, 6-9 месяцев).

В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к уменьшению снижения показателя GCA или фактора развития BSID-III после периода лечения, который составляет или превышает 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 месяцев или 1, 2, 3, 4, 5, 10 лет по сравнению с контролем (т.е. исходным показателем до лечения). Например, интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S может приводить к ежегодному снижению показателя GCA или фактора развития BSID-III менее чем на приблизительно 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11 или 10 баллов. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S может приводить к ежегодному снижению показателя GCA или фактора развития BSID-III менее чем на приблизительно 40, 35, 30, 25, 20, 15 или 10%. В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S дополнительно приводит к улучшению или стабилизации одной или более адаптивных функций, оцениваемых по пересмотренным шкалам независимого поведения (SIB-R). В некоторых вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S дополнительно приводит к улучшению или стабилизации одной или более управляющих функций, оцениваемых по опроснику поведенческой оценки управляющих функций (Behavior Rating Inventory of Executive Function®, BRIEF®).

В некоторых вариантах воплощения улучшение когнитивных функций, описанное здесь, достигается после периода лечения продолжительностью по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 30, 36 месяцев или более. В некоторых вариантах воплощения улучшение когнитивных функций, описанное здесь, достигается после периода лечения продолжительностью по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 лет или более.

В различных вариантах воплощения интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S можно применять для поддержания улучшения когнитивных функций, описанного здесь, в течение более 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 месяцев или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 лет, или всей жизни пациента, подвергаемого лечению. В различных вариантах воплощения одну или более когнитивных, адаптивных, моторных и/или управляющих функций также можно использовать в качестве биомаркеров для мониторинга и/или оптимизации лечения. Например, дозу и/или интервал введения для интратекального и/или внутривенного введения (при применении интратекального введения в сочетании с внутривенным введением) можно регулировать (например, увеличивать или уменьшать) на основании показателя GCA, BSID-III, SIB-R и/или BRIEF. В некоторых вариантах воплощения дозу для интратекального введения можно увеличить, если показатель GCA, BSID-III, SIB-R и/или BRIEF не улучшается после 4, 5 или 6 доз.

Термины "улучшить", "увеличить" или "уменьшить" при использовании здесь указывают на значения относительно контроля. В некоторых вариантах воплощения подходящий контроль представляет собой оценку или измерение в исходный момент времени, например, оценку или измерение у того же самого индивида до начала лечения, описанного здесь, или оценку или измерение у контрольного индивида (или нескольких контрольных индивидов) в отсутствие лечения, описанного здесь. "Контрольный индивид" представляет собой индивида, страдающего таким же заболеванием, примерно такого же возраста и/или пола, как и индивид, подвергаемый лечению (для сопоставимости этапов заболевания индивида, подвергаемого лечению, и контрольного индивида (индивидов)).

Индивид (также называемый "пациентом" или "субъектом"), подвергаемый лечению, представляет собой индивида (плод, младенца, ребенка, подростка или взрослого человека), страдающего заболеванием или подверженного вероятности развития заболевания. Предполагается, что начало интратекальной терапии на ранних этапах ухудшения неврологического развития может быть особенно эффективно при лечении когнитивных нарушений. Так, в некоторых вариантах воплощения возраст субъекта, подвергаемого лечению, составляет по меньшей мере 6 месяцев, 12 месяцев, 18 месяцев, 2 года, 2,5 года, 3 года, 3,5 года, 4 года, 4,5 года или 5 лет. В некоторых вариантах воплощения субъекту, подвергаемому лечению, меньше 5, 4,5, 4, 3,5, 3, 2,5, 2, 1,5 лет или 12, 10, 8, 6 месяцев. В некоторых вариантах воплощения субъекту, подвергаемому лечению, меньше 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 месяца. В некоторых вариантах воплощения субъекту, подвергаемому лечению, меньше 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 дня(дней). В некоторых вариантах воплощения показатель GCA или фактор развития BSID-III субъекта, подвергаемого лечению, до лечения составляет менее чем 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 15, 10 или не поддается проверке. В некоторых вариантах воплощения показатель GCA или фактор развития BSID-III субъекта, подвергаемого лечению, до лечения снижается менее чем на 40, 35, 30, 25, 20, 15 или 10% по сравнению с нормальным исходным уровнем. В некоторых вариантах воплощения показатель GCA или фактор развития BSID-III субъекта, подвергаемого лечению, до лечения находится в диапазоне приблизительно 60-100 (например, приблизительно 60-95, 60-90, 60-85, 60-80, 60-75, 60-70, 70-100, 70-95, 70-90, 70-85, 70-80, 80-100, 80-95, 80-90).

Настоящее изобретение будет более понятным при рассмотрении следующих примеров. В то же время они не должны рассматриваться в качестве информации, ограничивающей рамки настоящего изобретения. Все процитированные источники включены посредством ссылок.

#### Примеры

Пример 1. Оценка концентраций I2S в сыворотке и/или СМЖ субъектов детского возраста.

Эксперименты, представленные в этом примере, были предназначены для оценки подходящих моделей для определения прогнозируемой концентрации I2S в сыворотке и/или СМЖ и анализа наблюдае-

мой в сравнении с прогнозируемой концентрации I2S у субъектов детского возраста после в/в или ИТ приема. Во-первых, проведены эксперименты для изучения различных компартментных моделей и их соответствующих возможностей по аппроксимации данных о концентрации в сыворотке и СМЖ после в/в и ИТ-Л введения I2S субъектам-людям. Профили "Средняя концентрация I2S - время" после в/в и ИТ-Л введения различных доз I2S определяли в сыворотке и СМЖ с помощью стандартных способов. Структурное моделирование применяли для построения 2-компаратментной модели (фиг. 1), а также параметров, демонстрирующих межкомпаратментный обмен между плазмой и СМЖ (фиг. 2). Анализ с прогнозированием как для в/в, так и для ИТ введения осуществляли с помощью модели человека и аллометрической модели с целью оценки различных параметров I2S в различных жидкостях (например, сыворотке и СМЖ) у детей (Фигуры 3 и 4). Для оценки модели человека анализировали концентрацию I2S в сыворотке после в/в или ИТ введения в организмы пациентов-людей с помощью твердофазного ИФА. Согласно полученным данным, применение модели человека обеспечивает точный прогноз концентрации I2S в сыворотке для ИТ и в/в введения на основании данных, полученных на приматах, не являющихся человеком, по сравнению с наблюдаемыми значениями.

Тем не менее, учитывая разницу в росте и массе тела между субъектами-людьми и приматами, не являющимися людьми, для оценки применения аллометрической модели выполнили дополнительные исследования. Уровни концентрации I2S в сыворотке измеряли как у субъектов детского возраста, так и у приматов, не являющихся людьми, в различные моменты времени после ИТ-Л доставки. Поправочный коэффициент рассчитали на основе различия отношения массы головного мозга и тела для людей и приматов, не являющихся людьми. На фиг. 5 показаны аллометрически масштабируемые популяционные фармакокинетические (PopPK) параметры у детей для ИТ-I2S после поправки на различие отношения массы головного мозга/тела у приматов, не являющихся людьми (NHP), и детей. Как для сыворотки, так и для СМЖ проводили расчеты с целью оценки прогнозируемых значений различных параметров у двух групп субъектов: субъектов детского возраста младше 6 лет и подростков в возрасте 6-17 лет. Расчеты проводили путем принятия расчетного фармакокинетического значения для каждого параметра у приматов, не являющихся людьми, и поправок на различия, применяя отношение массы головного мозга/тела у примата, не являющегося человеком, по сравнению с ребенком (фиг. 5). Для приматов, не являющихся людьми, средняя масса составляла 2,73 кг. Параметры масштабировали с помощью медианной массы тела (20,6 кг) клинических субъектов-людей детского возраста (фиг. 5). Фиг. 6 демонстрирует типичный элементарный график Дедрика концентрации I2S в сыворотке, масштабируемой по массе тела, в зависимости от масштабируемого времени у субъектов детского возраста и обезьян после ИТ-Л введения.

Концентрации I2S в сыворотке, полученные у субъектов детского возраста, анализировали и оценивали по сравнению с прогнозируемыми концентрациями в сыворотке, определенными с помощью вышеописанных моделей и способов. На фиг. 7 представлен профиль "наблюдаемая и прогнозируемая концентрация I2S в сыворотке - время" у субъектов детского возраста после однократного в/в вливания I2S в концентрации 0,5 мг/кг. Данные показывают, что прогнозируемый профиль после в/в введения хорошо прогнозировался с помощью масштабируемой модели NC. На фиг. 8 представлен профиль "наблюдаемая и прогнозируемая концентрация I2S в сыворотке - время" у субъектов детского возраста после однократного ИТ-Л введения 10 мг. Типичные данные с поправкой на различие отношения массы головного мозга/тела показаны на фиг. 9. Полученные данные показывают, что применение поправки на отношение массы головного мозга/тела улучшало прогноз. Кроме того, выполнили исследования с целью определения оптимальных условий пробоотбора и моментов времени для измерения фармакокинетических параметров в сыворотке крови и СМЖ после доставки I2S (Фиг. 10).

Эти результаты продемонстрировали, что подход с моделированием, описанный здесь, может обеспечить точный прогноз фармакологических измерений у субъектов-людей на основании данных, полученных от приматов, не являющихся людьми. Эти результаты также показали, что ИТ доставка у субъектов-людей, в частности, субъектов детского возраста может повлиять на концентрацию I2S как в сыворотке, так и в СМЖ, и концентрации I2S в сыворотке и/или СМЖ можно использовать для мониторинга и/или оптимизации лечения и терапевтической эффективности.

Пример 2. Оценка переносимости 100-мг дозировки и моделирование прогнозируемой концентрации I2S в сыворотке и СМЖ.

С использованием как экспериментальных данных, так и фармакокинетических моделей, полученных выше, выполняли расчеты с целью оценки безопасности и дополнительной эффективности ежемесячной 100-мг дозы идурсульфазы по сравнению с 30-мг дозой. С помощью как модели человека, так аллометрической модели можно экстраполировать прогнозируемое воздействие на плазму, в том числе прогнозируемые значения  $C_{\max}$  и ППК после ежемесячной ИТ доставки 100 мг идурсульфазы (Фигуры 11 и 12). Таким образом, данные показывают, что такой подход можно применять для определения безопасности и эффективности ежемесячной 100-мг (или большей) ИТ дозы идурсульфазы. Кроме того, можно предположить, что с учетом прогнозируемого фармакокинетического профиля 100-мг ИТ дозу можно было эффективно и безопасно вводить пациенту-человеку.

Пример 3. Фармакокинетический анализ интратекально введенного I2S Указанные фармакокинетические (ФК) свойства идурсульфазы-ИТ (рекомбинантной I2S человека для интратекального [ИТ] введе-



ния) оценивали в ходе клинического исследования ПУП фазы, предназначенного для оценки безопасности и эффективности ИТ доставки замещающего фермента I2S у пациентов-людей с синдромом Хантера.

Субъектов-людей с ранее установленным диагнозом синдрома Хантера включали в исследование и набирали из различных возрастных групп с разной степенью тяжести заболевания. В клинических исследованиях применяли очищенную форму лизосомального фермента идуронат-2-сульфатазы, продуцированную с помощью технологии рекомбинантных ДНК в линии клеток человека. Для исследования каждому субъекту имплантировали устройство интратекальной доставки лекарственных препаратов (IDDD) в интратекальное пространство, окружающее спинной мозг. В зависимости от экспериментальной группы ежемесячно выполняли интратекальную доставку 0, 1, 10 или 30 мг идурсульфазы посредством IDDD в сочетании с в/в введением. Ежемесячный прием продолжали в течение 36 месяцев с целью определения переносимости и эффективности лекарственного средства. Состав для интратекального введения, применявшийся в указанном исследовании, содержал I2S (50 мг/мл), хлорид натрия (9 мг/мл) и полисорбат 20 (0,00005 мл/мл).

Для определения фармакокинетического профиля идурсульфазы в образцах сыворотки пациентов детского возраста создали два направления исследования. Целью указанного подхода с использованием двух направлений исследования являлось определение ФК-профиля идурсульфазы в образцах сыворотки, полученных от пациентов детского возраста с синдромом Хантера и когнитивными нарушениями, интратекально ежемесячно получавших идурсульфазу-ИТ в сочетании с еженедельным внутривенным введением идурсульфазы (3-ч вливание 0,5 мг/кг). Первоначальное исследование представляло собой рандомизированное многоцентровое исследование с использованием многократных доз, временной задержкой и увеличением дозы для оценки безопасности, переносимости и клинической активности до 4 уровней доз идурсульфазы-ИТ, ежемесячно вводимых через устройство интратекальной доставки лекарственных препаратов (IDDD) в течение 6 месяцев в сочетании с еженедельными внутривенными (в/в) вливаниями рекомбинантной I2S (0,5 мг/кг) у пациентов с синдромом Хантера и когнитивными нарушениями. Пациентам, выполнившим все требования в первом исследовании, затем разрешили участвовать во втором промежуточном исследовании, разработанном как открытое продолжение первоначального исследования с целью оценки долгосрочной безопасности и клинических последствий применения идурсульфазы-ИТ, вводимой в сочетании с внутривенным введением I2S пациентам детского возраста с синдромом Хантера и когнитивными нарушениями.

В первоначальное исследование включали по четыре пациента на группу, получавшую лечение. Еще одну группу из 4 пациентов случайным образом назначали на лечение без ИТ введения в течение 6 месяцев (группа, получавшая только в/в введение в рамках групп, получавших ИТ и в/в лечение). Пациентов зачисляли в группу 1 (10 мг) и группу 2 (30 мг) последовательным нарастающим образом. Зачисление в группу 4 (1,0 мг) начиналось после зачисления в группу 2. Ввиду благоприятного ФД-эффекта, наблюдавшегося при 30 мг, первоначально запланированную 100-мг дозу не применяли, вместо этого использовали группу с 1-мг дозой.

Продолжительность лечения с применением идурсульфазы-ИТ в первоначальном исследовании составила 6 месяцев, причем пациенты получали 1 дозу идурсульфазы-ИТ каждые 28 дней. Пациенты, выполнившие все требования в первоначальном исследовании, переходили в открытое продолжение исследования для оценки долгосрочной безопасности и клинических последствий ИТ введения идурсульфазы-ИТ. Пациенты, получавшие идурсульфазу-ИТ в первом исследовании, получали лечение по аналогичной схеме лечения в продолжении исследования и будут продолжать получать лечение с максимальной продолжительностью 5 лет. В первоначальном исследовании фармакокинетические анализы в сыворотке выполняли на неделе 3 (после первого введения идурсульфазы-ИТ) и неделе 23 (после шестого введения идурсульфазы-ИТ). Для пациентов, продолживших участие во втором исследовании, также проводили фармакокинетический анализ, но в месяц 19 и месяц 31. В недели ИТ введения в первом и втором исследованиях в/в дозу вводили через 2 дня после ИТ дозы.

Пробоотбор крови.

Оценка профилей "концентрация идурсульфазы - время" в спинномозговой жидкости (СМЖ) затруднена из-за ограниченного количества клинически допустимых образцов спинномозговой жидкости. Таким образом, хотя определение всеобъемлющего фармакокинетического профиля в СМЖ не представляется возможным, уровни идурсульфазы оценивали косвенно путем измерения системных профилей "концентрация идурсульфазы в сыворотке - время" в образцах крови. Образцы крови собирали у пациентов, получавших идурсульфазу-ИТ или в/в, на неделях 3 и 23 (10- и 30-мг группы) и в месяц 19 (10-мг группа) и анализировали. Все образцы крови для ФК-анализа отбирали из сосуда на руке, противоположной руке для в/в вливания, помещали в пробирки без антикоагулянта и позволяли образоваться сгустку при комнатной температуре. Отбор образцов крови выполняли за 15 мин перед введением идурсульфазы-ИТ (исходный уровень перед введением или время 0) и через 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 12 и 24 ч после введения идурсульфазы-ИТ. Время пробоотбора продляли до 30 и 36 ч после введения идурсульфазы-ИТ на 23 неделе (30-мг группа) и в 19 месяце. Отбор образцов крови для оценки в/в ФК выполняли за 15 мин перед в/в вливанием (исходный уровень перед вливанием или время 0) и в моменты 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 и 3 ч во время вливания, и через 3,5, 4, 5, 6, 7, 9, 11 и 24 ч после начала в/в вливания.

## Анализ I2S в сыворотке

Концентрацию белка идурсульфазы в образцах сыворотки для ФК-анализа анализировали с использованием проверенных способов твердофазного иммуоферментного анализа (твердофазного ИФА). Нижний предел количественного определения (НПКО) методики твердофазного ИФА, применяемой для измерения концентрации идурсульфазы в сыворотке после в/в введения, составлял 62,5 нг/мл. НПКО анализа, применяемого для измерения концентрации идурсульфазы в сыворотке после введения идурсульфазы-ИТ, составлял 6,25 нг/мл. Для образцов идурсульфазы-ИТ применяли анализ белка идурсульфазы с повышенной чувствительностью с целью обнаружения и оценки ожидаемых низких значений идурсульфазы, поступающих в системный кровоток из компартмента ЦНС после ИТ введения.

## Фармакокинетический анализ.

Фармакокинетические параметры для идурсульфазы определяли путем некомпартментного анализа с помощью Phoenix версии 6.1 (Pharsight Corporation, Маунтин-Вью, штат Калифорния, США). Для ФК-анализа использовали фактическое время ФК пробоотбора крови по отношению к началу введения идурсульфазы-ИТ. Для ФК-анализа концентрации идурсульфазы в сыворотке после начала в/в вливания использовали фактическое время вливания (приблизительно 180 мин) и фактическое время пробоотбора. Непрерывные данные обобщали с помощью описательной статистики: количества наблюдений, среднего, стандартного отклонения (СО), геометрического среднего, коэффициента вариации (% CV), медианного, минимального и максимального значений. Классификационные данные обобщали с помощью частот и/или процентных значений. Фармакокинетические параметры, рассчитанные для каждого образца, включали: максимальную наблюдаемую концентрацию в сыворотке ( $C_{\max}$ ), время  $C_{\max}$  ( $T_{\max}$ ), площадь под кривой "концентрация в сыворотке-время" от нуля до последнего времени пробоотбора, при котором концентрация в сыворотке поддавалась измерению (ППК<sub>0-посл</sub>), площадь под кривой "концентрация в сыворотке-время", экстраполированной до бесконечности (ППК<sub>0-∞</sub>), воздействие при равновесном состоянии интервала приема (ППК<sub>ss</sub>), конечная константа скорости ( $\lambda_z$ ), производная от наклона логлинейной регрессии логлинейного концевого фрагмента кривой "концентрация в сыворотке - время", конечный период полувыведения ( $t_{1/2}$ ), рассчитанный как  $0,693/\lambda_z$ , среднее время удержания, экстраполированное до бесконечности (MRT<sub>inf</sub>), рассчитанное как ППСК<sub>0-∞</sub>/ППК<sub>0-∞</sub>, общий клиренс (CL), рассчитанный как доза/ППК<sub>0-∞</sub>, объем распределения ( $V_{ss}$ ), рассчитанный как MRT<sub>inf</sub> CL, и распределение объема ( $V_z$ ), получаемое в фазе выведения.

## US-ИТ в/в (неделя 3).

Данные продемонстрировали, что при дозах 10 и 30 мг идурсульфаза-ИТ характеризовалась аналогичными профилями "концентрация идурсульфазы в сыворотке - время" (фиг. 13). Интратекальное введение идурсульфазы-ИТ продемонстрировало медленное распределение в системных компартментах, причем время максимальной наблюдаемой концентрации ( $T_{\max}$ ) при дозах 10 мг и 30 мг идурсульфазы-ИТ составляло 545,5±226,1 мин и 420±84,9 мин, соответственно. На 3 неделе имела место высокая степень изменчивости значений  $C_{\max}$  и ППК<sub>0-посл</sub> у отдельных пациентов в группах, получавших 10 мг (n=4) и 30 мг (n=2) идурсульфазы-ИТ, однако в целом системное воздействие двух экспериментальных групп было аналогичным.  $C_{\max}$  составляла 144,5±65,9 нг/мл и 204,8±33, нг/мл, а ППК<sub>0-посл</sub> составляла 140084,5±45590,1 мин нг/мл и 190487,7±38569,0 мин-нг/мл для групп, получавших 10 и 30 мг идурсульфазы-ИТ, соответственно (табл. 5). В/в ППК<sub>0-∞</sub> и  $C_{\max}$  для группы, получавшей 10 мг идурсульфазы-ИТ, на 3 неделе составляли 469936,2±85471,3 мин нг/мл и 1695,5±376,0 нг/мл, соответственно. I2S в/в ППК<sub>0-∞</sub> и  $C_{\max}$  для группы, получавшей 30 мг идурсульфазы-ИТ, на 3 неделе составляли 553300,4±190671,0 мин нг/мл и 2187,5±979,5 нг/мл, соответственно (табл. 8).

## I2S-ИТ в/в (неделя 23).

На 23 неделе ФК-профили обеих групп, получавших идурсульфаза-ИТ, были аналогичны 3 неделе (фиг. 14). Идурсульфаза-ИТ демонстрировала медленное распределение в системном компартменте, причем  $T_{\max}$  составляло 570,8±181,5 мин и 450,5±60,3 мин для доз 10 мг и 30 мг, соответственно. Аналогично 3 неделе на 23 неделе имела место высокая степень изменчивости значений  $C_{\max}$  и ППК<sub>0-посл</sub> у отдельных пациентов в группах, получавших 10 мг (n=4) и 30 мг (n=4) идурсульфазы-ИТ, а системное воздействие было выше в группе, получавшей 10 мг идурсульфазы-ИТ.  $C_{\max}$  составляла 150,4±50,2 нг/мл и 95,1±59,3 нг/мл, а ППК<sub>0-посл</sub> составляла 150529,0±43878,8 мин нг/мл и 102278,3±105526,2 мин-нг/мл для групп, получавших 10 и 30 мг идурсульфазы-ИТ, соответственно (табл. 6). На неделе 23 I2S в/в ППК<sub>0-∞</sub> и  $C_{\max}$  для группы, получавшей 10 мг идурсульфазы-ИТ, составляли 483492,6±69182,3 мин нг/мл и 1704,7±410,0 нг/мл, соответственно. I2S в/в ППК<sub>0-∞</sub> и  $C_{\max}$  для группы, получавшей 30 мг идурсульфазы-ИТ, на 23 неделе составляли 546934,2±115402,7 мин нг/мл и 2142,1±660,9 нг/мл, соответственно (Табл. 9).

## I2S-ИТ в/в (месяц 19).

В момент времени, соответствовавший 19 месяцу, ФК-профили идурсульфазы-ИТ были аналогичны профилям, наблюдавшимся на 3 и 23 неделе (фиг. 15). Концентрации идурсульфазы в сыворотке характеризовались  $T_{\max}$  570,0±180,0 мин. Оценка в 19 месяце показала, что системное воздействие при 10-

мг дозе идурсульфазы-ИТ было сопоставимо со значениями, наблюдавшимися на 3 и 23 неделе. С<sub>макс</sub> и ППК<sub>0-посл</sub> составляли 96,4±44,3 нг/мл и 124433,3±30757,6 мин·нг/мл, соответственно (табл. 7). Внутривенно введенная I2S (0,5 мг/кг) демонстрировала перекрывающиеся профили "концентрация идурсульфазы в сыворотке - время" (фиг. 3), а также ФК-параметры, аналогичные параметрам на 3 и 23 неделе (табл. 9). В оба периода времени значения С<sub>макс</sub>, в целом, совпадали с окончанием вливания (3 ч).

Таблица 5

Типичные некомпартментные ФК-параметры концентраций идурсульфазы в сыворотке у пациентов в первом исследовании после введения идурсульфазы-ИТ (неделя 3)

	t <sub>1/2</sub> (мин)	T <sub>макс</sub> (мин)	C <sub>макс</sub> (нг/мл)	ППК <sub>0-посл</sub> (мин·нг/мл)	ППК <sub>0-3ч</sub> (мин·нг/мл)	V <sub>z</sub> (мл)	Cl (мл/мин)	MRT <sub>inf</sub> (мин)
<b>Пациент</b>	<b>10 мг</b>							
045-013-0004	1308,2	250,0	134,1	147351,1	295976,6	63765,4	33,8	2018,5
045-013-0005	НР	725,0	91,2	100284,5	НР	НР	НР	НР
045-013-0011	НР	720,0	112,9	111243,9	НР	НР	НР	НР
045-013-0014	НР	487,0	239,9	201458,4	НР	НР	НР	НР
<b>N</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
<b>Среднее</b>	1308,2	545,5	144,5	140084,5	295976,6	63765,4	33,8	2018,5
<b>CO</b>	НР	226,1	65,9	45590,1	НР	НР	НР	НР
<b>CV%</b>	НР	41,5	45,6	32,5	НР	НР	НР	НР
<b>Медиана</b>	1308,2	603,5	123,5	129297,5	295976,6	63765,4	33,8	2018,5
<b>Минимум</b>	1308,2	250,0	91,2	100284,5	295976,6	63765,4	33,8	2018,5
<b>Максимум</b>	1308,2	725,0	239,9	201458,4	295976,6	63765,4	33,8	2018,5
<b>Геом.среднее</b>	1308,2	502,1	134,9	134900,1	295976,6	63765,4	33,8	2018,5
<b>Пациент</b>	<b>30 мг</b>							
045-013-0003	622,4	360,0	181,3	163215,3	217883,3	123639,1	137,7	1073,6
045-013-0006	НР	480,0	228,4	217760,1	НР	НР	НР	НР
<b>N</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
<b>Среднее</b>	622,4	420,0	204,8	190487,7	217883,3	123639,1	137,7	1073,6
<b>CO</b>	НР	84,9	33,3	38569,0	НР	НР	НР	НР
<b>CV%</b>	НР	20,2	16,3	20,2	НР	НР	НР	НР
<b>Медиана</b>	622,4	420,0	204,8	190487,7	217883,3	123639,1	137,7	1073,6
<b>Минимум</b>	622,4	360,0	181,3	163215,3	217883,3	123639,1	137,7	1073,6
<b>Максимум</b>	622,4	480,0	228,4	217760,1	217883,3	123639,1	137,7	1073,6
<b>Геом.среднее</b>	622,4	415,7	203,5	188525,3	217883,3	123639,1	137,7	1073,6

НР - не рассчитывали ввиду недостатка данных

Таблица 6

Типичные некомпартментные ФК-параметры концентраций идурсульфазы в сыворотке у пациентов в первом исследовании после введения идурсульфазы-ИТ (неделя 23)

	t <sub>1/2</sub> (мин)	T <sub>макс</sub> (мин)	C <sub>макс</sub> (нг/мл)	ППК <sub>0-посл</sub> (мин·нг/мл)	ППК <sub>0-∞</sub> (мин·нг/мл)	V <sub>z</sub> (мл)	CL (мл/мин)	MRT <sub>int</sub> (мин)
<b>Пациент</b>	<b>10 мг</b>							
045-013-0004	1461,8	359,0	220,0	214132,4	434076,7	48585,1	23,0	2128,6
045-013-0005	НР	480,0	116,2	120864,6	НР	НР	НР	НР
045-013-0011	НР	724,0	154,1	145280,2	НР	НР	НР	НР
045-013-0014	НР	720,0	111,4	121839,0	НР	НР	НР	НР
<b>N</b>	1	4	4	4	1	1	1	1
<b>Среднее</b>	1461,8	570,8	150,4	150529,0	434076,7	48585,1	23,0	2128,6
<b>СО</b>	НР	181,5	50,2	43878,8	НР	НР	НР	НР
<b>CV%</b>	НР	31,8	33,3	29,1	НР	НР	НР	НР
<b>Медиана</b>	1461,8	600,0	135,1	133559,6	434076,7	48585,1	23,0	2128,6
<b>Минимум</b>	1461,8	359,0	111,4	120864,6	434076,7	48585,1	23,0	2128,6
<b>Максимум</b>	1461,8	724,0	220,0	214132,4	434076,7	48585,1	23,0	2128,6
<b>Геом.среднее</b>	1461,8	547,5	144,7	146299,7	434076,7	48585,1	23,0	2128,6
<b>Пациент</b>	<b>30 мг</b>							
045-013-0003	656,1	480,0	182,0	235827,9	274312,5	103513,1	109,4	1165,9
045-013-0006	3898,6	360,0	75,0	137590,2	474893,4	355313,4	63,2	5841,3
045-014-1007	НР	482,0	48,4	12024,5	НР	НР	НР	НР
045-014-1009	НР	480,0	75,1	23670,5	НР	НР	НР	НР
<b>N</b>	2	4	4	4	2	2	2	2
<b>Среднее</b>	2277,3	450,5	95,1	102278,3	374602,9	229413,2	86,3	3503,6
<b>СО</b>	2292,8	60,3	59,3	105526,2	141832,1	178049,7	32,7	3306,0
<b>CV%</b>	100,7	13,4	62,3	103,2	37,9	77,6	37,9	94,4
<b>Медиана</b>	2277,3	480,0	75,1	80630,3	374602,9	229413,2	86,3	3503,6
<b>Минимум</b>	656,1	360,0	48,4	12024,5	274312,5	103513,1	63,2	1165,9
<b>Максимум</b>	3898,6	482,0	182,0	235827,9	474893,4	355313,4	109,4	5841,3
<b>Геом.среднее</b>	1599,3	447,2	83,9	55127,0	360928,2	191780,1	83,1	2609,7

НР - не рассчитывали ввиду недостатка данных

Таблица 7

Типичные некомпартментные ФК-параметры концентраций идурсульфазы в сыворотке у пациентов во втором исследовании после введения идурсульфазы-ИТ (месяц 19)

	t <sub>1/2</sub> (мин)	T <sub>макс</sub> (мин)	C <sub>макс</sub> (нг/мл)	ППК <sub>0-посл</sub> (мин·нг/мл)	ППК <sub>0-∞</sub> (мин·нг/мл)	V <sub>z</sub> (мл)	CL (мл/мин)	MRT <sub>int</sub> (мин)
<b>Пациент</b>	<b>10 мг</b>							
046-013-0004	НР	480,0	159,1	166524,2	НР	НР	НР	НР
046-013-0005	1413,3	360,0	94,6	119038,8	190710,6	106917,3	52,4	2183,7
046-013-0011	1092,2	720,0	58,8	92593,8	135247,7	116503,9	73,9	1860,3
046-013-0014	1162,1	720,0	73,1	119576,3	180115,5	93080,3	55,5	1969,6
<b>N</b>	3	4	4	4	3	3	3	3
<b>Среднее</b>	1222,5	570,0	96,4	124433,3	168691,3	105500,5	60,6	2004,5
<b>СО</b>	168,9	180,0	44,3	30757,6	29443,5	11775,9	11,6	164,5
<b>CV%</b>	13,8	31,6	46,0	24,7	17,5	11,2	19,2	8,2
<b>Медиана</b>	1162,1	600,0	83,8	119307,6	180115,5	106917,3	55,5	1969,6
<b>Минимум</b>	1092,2	360,0	58,8	92593,8	135247,7	93080,3	52,4	1860,3
<b>Максимум</b>	1413,3	720,0	159,1	166524,2	190710,6	116503,9	73,9	2183,7
<b>Геом. среднее</b>	1215,0	547,1	89,7	121716,2	166859,9	105054,7	59,9	2000,1

НР - не рассчитывали ввиду недостатка данных

Таблица 8

Типичные некомпартментные ФК-параметры концентраций идурсульфазы в сыворотке у пациентов в первом исследовании после в/в введения рекомбинантной I2S (неделя 3)

	$t_{1/2}$ (мин)	$T_{max}$ (мин)	$C_{max}$ (нг/мл)	ППК <sub>0-посл</sub> (мин·нг/мл)	ППК <sub>0-∞</sub> (мин·нг/мл)	$V_z$ (мл)	CL (мл/мин)	MRT <sub>inf</sub> (мин)	$V_{ss}$ (мл/кг)
<b>Пациент</b>	<b>Элапраза в/в (0,5 мг/кг) в группе, получавшей 10 мг идурсульфазы-ИТ</b>								
045-013-0004	769,4	150,0	1211,6	292786,7	362161,9	1532,5	1,38	769,0	1061,7
045-013-0005	612,8	150,0	1642,8	415675,4	470928,8	938,6	1,06	559,2	593,7
045-013-0011	688,2	152,0	1816,7	413324,4	475376,1	1044,3	1,05	582,6	612,7
045-013-0014	357,5	180,0	2110,9	535739,4	571277,9	451,4	0,88	435,6	381,2
<b>N</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>
<b>Среднее</b>	607,0	158,0	1695,5	414381,4	469936,2	991,7	1,1	586,6	662,3
<b>CO</b>	178,2	14,7	376,0	99189,8	85471,3	443,4	0,2	137,6	286,1
<b>CV%</b>	29,4	9,3	22,2	23,9	18,2	44,7	19,3	23,5	43,2
<b>Медиана</b>	650,5	151,0	1729,8	414499,9	473152,4	991,4	1,1	570,9	603,2
<b>Минимум</b>	357,5	150,0	1211,6	292786,7	362161,9	451,4	0,9	435,6	381,2
<b>Максимум</b>	769,4	180,0	2110,9	535739,4	571277,9	1532,5	1,4	769,0	1061,7
<b>Геом. среднее</b>	583,6	157,5	1662,2	405170,2	463912,1	907,5	1,1	574,7	619,5
<b>Пациент</b>	<b>Элапраза в/в (0,5 мг/кг) в группе, получавшей 30 мг идурсульфазы-ИТ</b>								
045-013-0003	719,7	180,0	1739,4	454701,0	519597,0	999,2	0,96	589,0	566,8
045-013-0006	637,9	120,0	3310,9	672529,5	758575,8	606,6	0,66	557,4	367,4
045-014-1009	511,4	182,0	1512,1	335613,3	381728,3	966,4	1,31	544,2	712,8
<b>N</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>
<b>Среднее</b>	623,0	160,7	2187,5	487614,6	553300,4	857,4	1,0	563,6	549,0
<b>CO</b>	104,9	35,2	979,5	170852,6	190671,0	217,8	0,3	23,0	173,4
<b>CV%</b>	16,8	21,9	44,8	35,0	34,5	25,4	33,3	4,1	31,6
<b>Медиана</b>	637,9	180,0	1739,4	454701,0	519597,0	966,4	1,0	557,4	566,8
<b>Минимум</b>	511,4	120,0	1512,1	335613,3	381728,3	606,6	0,7	544,2	367,4
<b>Максимум</b>	719,7	182,0	3310,9	672529,5	758575,8	999,2	1,3	589,0	712,8
<b>Геом. среднее</b>	616,9	157,8	2057,4	468193,6	531871,4	836,7	0,9	563,2	529,5

Таблица 9. Типичные некомпартментные ФК-параметры концентраций идурсульфазы в сыворотке у пациентов в первом исследовании после в/в введения рекомбинантной I2S (неделя 23)

	$t_{1/2}$ (мин)	$T_{max}$ (мин)	$C_{max}$ (нг/мл)	ППК <sub>0-посл</sub> (мин·нг/мл)	ППК <sub>0-∞</sub> (мин·нг/мл)	$V_z$ (мл)	CL (мл/мин)	MRT <sub>inf</sub> (мин)	$V_{ss}$ (мл/кг)
<b>Пациент</b>	<b>Элапраза в/в (0,5 мг/кг) в группе, получавшей 10 мг идурсульфазы-ИТ</b>								
045-013-0004	904,3	122,0	1448,3	386358,5	487860,2	1337,1	1,02	858,4	879,8
045-013-0005	848,6	150,0	1324,3	312708,6	389225,1	1572,7	1,28	800,2	1027,9
045-013-0011	576,4	150,0	1809,5	449898,1	501870,5	828,5	1,00	539,8	537,7
045-013-0014	605,4	181,0	2236,5	500429,9	555014,6	786,8	0,90	525,2	473,1
<b>N</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>
<b>Среднее</b>	733,7	150,8	1704,7	412348,8	483492,6	1131,3	1,1	680,9	729,6
<b>CO</b>	166,9	24,1	410,0	81182,7	69182,3	386,3	0,2	173,1	267,2
<b>CV%</b>	22,7	16,0	24,1	19,7	14,3	34,1	15,6	25,4	36,6
<b>Медиана</b>	727,0	150,0	1628,9	418128,3	494865,3	1082,8	1,0	670,0	708,8
<b>Минимум</b>	576,4	122,0	1324,3	312708,6	389225,1	786,8	0,9	525,2	473,1
<b>Максимум</b>	904,3	181,0	2236,5	500429,9	555014,6	1572,7	1,3	858,4	1027,9
<b>Геом. среднее</b>	719,3	149,3	1669,1	406113,0	479565,7	1082,0	1,0	664,3	692,6
<b>Пациент</b>	<b>Элапраза в/в (0,5 мг/кг) в группе, получавшей 30 мг идурсульфазы-ИТ</b>								
045-013-0003	1057,0	152,0	1452,7	330584,3	425895,3	1790,3	1,17	928,9	1090,5
045-013-0006	619,0	187,0	2770,1	588480,6	655723,4	680,9	0,76	531,4	405,2
045-014-1007	86,1	210,0	2203,7	507196,8	559184,0	111,1	0,89	226,2	202,3
<b>N</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>

Среднее	587,4	183,0	2142,1	475420,6	546934,2	860,8	0,9	562,2	566,0
СО	486,2	29,2	660,9	131851,9	115402,7	853,9	0,2	352,4	465,5
CV%	82,8	16,0	30,9	27,7	21,1	99,2	22,3	62,7	82,2
Медиана	619,0	187,0	2203,7	507196,8	559184,0	680,9	0,9	531,4	405,2
Минимум	86,1	152,0	1452,7	330584,3	425895,3	111,1	0,8	226,2	202,3
Максимум	1057,0	210,0	2770,1	588480,6	655723,4	1790,3	1,2	928,9	1090,5
Геом. среднее	383,3	181,4	2069,8	462094,0	538508,8	513,5	0,9	481,5	447,1

Биодоступность идурсульфазы-ИТ после ИТ введения.

Системную биодоступность идурсульфазы-ИТ после интратекального введения рассчитывали для подмножества пациентов с измеримыми значениями ППК<sub>0-∞</sub> (n=6; табл. 10). Высокую степень изменчивости между пациентами отмечали в группах, получавших 10 и 30 мг идурсульфазы-ИТ. Средняя процентная биодоступность в группах, получавших 10 мг и 30 мг идурсульфазы-ИТ, составила 53,2 (от 29,9 до 88,0%) и 38,4 (от 24,4 до 59,2%), соответственно. Средняя биодоступность идурсульфазы-ИТ в обеих экспериментальных группах составила 47,7±20,8%.

Таким образом, после приема ИТ доз 10 и 30 мг концентрации идурсульфазы в сыворотке медленно увеличивались, что указывало на небольшую утечку или отсутствие утечки интратекально введенной идурсульфазы и отсутствие прямого распределения в кровотоке. Вне связи с конкретным исследованием, одним из возможных механизмов является удаление идурсульфазы из СМЖ через пахионозные грануляции. Материалы проникают в грануляции путем микропиноцитоза, который является однонаправленным процессом, опосредующим транспорт из СМЖ в венозную систему или эпидуральное пространство.

Полученные материалы также указывают, что в первом (недели 0-23) исследовании 10-мг и 30-мг дозы идурсульфазы-ИТ на 3 неделе и 23 неделе демонстрировали почти перекрывающиеся профили "концентрация идурсульфазы в сыворотке - время". Средняя системная биодоступность идурсульфазы-ИТ после ИТ введения 10 и 30 мг составляла приблизительно 48% (диапазон 24-88%). Для двух указанных доз идурсульфазы не наблюдали пропорциональности дозы и воздействия идурсульфазы на сыворотку по отношению к C<sub>max</sub> или ППК<sub>0-посл.</sub>, что указывает на насыщение механизма(ов) транспорта из ЦНС в системный компартмент при ИТ введении дозы, меньшей или равной 10 мг.

Профиль безопасности.

Девять из 12 пациентов, получавших лечение (3 из 4 пациентов в каждой группе, получавшей ИТ дозы), сообщили о по меньшей мере одном нежелательном явлении, согласно оценкам, связанном с идурсульфазой-ИТ. В то же время серьезные нежелательные явления, считавшиеся связанными с идурсульфазой-ИТ, отсутствовали. Смертельные случаи во время исследования отсутствовали; ни один из субъектов не испытывал нежелательного явления, представлявшего угрозу для жизни, и не прекратил участие в исследовании вследствие нежелательного явления. При совместном рассмотрении клинические данные подтверждают, что ИТ введение рекомбинантного фермента I2S являлось безопасным и хорошо переносилось.

Пример 4. Интратекальное введение рекомбинантной I2S снижает уровни ГАГ в спинномозговой жидкости MPS II (синдром Хантера) в тяжелой форме характеризуется повышенным накоплением ГАГ в тканях организма. Диагноз синдрома Хантера коррелирует с наступлением прогрессивных задержек развития, особенно у подростков. Недавно было завершено исследование безопасности интратекальной заместительной ферментной терапии I/II фазы идурсульфазой-ИТ с применением состава идурсульфазы у пациентов с диагнозом синдрома Хантера, страдающих тяжелыми когнитивными нарушениями. Как описано в примере 3, шестнадцать детей с MPS II и когнитивными нарушениями зачислили в 4 группы, получавшие различные дозы препарата (без лечения, 1 мг, 10 мг, 30 мг). Идурсульфазу-ИТ вводили ежемесячно в течение 6 последовательных месяцев в виде медленного болюсного введения через устройство интратекальной доставки лекарственных препаратов или через люмбальную пункцию в сочетании с еженедельными внутривенными вливаниями (0,5 мг/кг). Идурсульфаза-ИТ, в целом, хорошо переносилась. Признаки менингеального воспаления, обусловленные контактом с идурсульфазой-ИТ, отсутствовали.

Уровень гликозаминогликанов (ГАГ) в спинномозговой жидкости (СМЖ) измеряли с помощью ферментативного анализа. Уровни ГАГ измеряли во время скрининга, во время имплантации, при каждом ежемесячном введении дозы и в конце исследования. Как продемонстрировано на фигурах 16-18, до начала заместительной ферментной терапии уровни ГАГ в СМЖ у всех пациентов были значительно повышены по сравнению с уровнями, наблюдаемыми у молодых здоровых взрослых добровольцев или контрольных детей. У пациентов, не получавших лечения, уровни оставались стабильными в течение 6 месяцев. Введение идурсульфазы-ИТ индуцировало снижение уровня ГАГ в СМЖ у всех пациентов, получавших лечение (фигуры 16-18). Кроме того, полученные результаты показывают, что стабильные уровни I2S обычно достигались после 2 или 3 инъекций при лечении с применением 10 и 30 мг идурсульфазы-ИТ (фиг. 19). При пропуске приема не наблюдалось восстановления уровней ГАГ в СМЖ (данные не показаны).

Эти данные показывают, что идурсульфаза-ИТ была фармакодинамически активна при введении в

СМЖ детей с MPS II и могла эффективно снижать уровни ГАГ в СМЖ.

Пример 5. Интратекальное введение рекомбинантной I2S улучшает когнитивную деятельность

В данном примере продемонстрировано, что интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S улучшало когнитивную деятельность у пациентов с диагнозом синдрома Хантера, страдающих тяжелыми когнитивными нарушениями, на основании данных, полученных в ходе исследования безопасности интратекальной заместительной ферментной терапии I/II фазы с применением идурсульфазы-ИТ (см. пример 3).

Считается, что внутривенная заместительная ферментная терапия с применением рекомбинантной идурсульфазы не влияет на когнитивные нарушения из-за непроницаемости гематоэнцефалического барьера для крупных белков. В данном исследовании по 4 пациента получали 1, 10 или 30 мг идурсульфазы-ИТ ежемесячно в течение 6-35 месяцев, и еще 4 ребенка не получали лечения в течение 6 месяцев, а затем были переведены на активное лечение. Лекарственное средство вводили через устройство интратекальной доставки лекарственных препаратов или через люмбальную пункцию. У большинства из 16 пациентов при зачислении было прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, исключающее возможность подробной оценки когнитивных функций. Серьезных нежелательных явлений, связанных с идурсульфазой-ИТ, на сегодняшний день не наблюдалось.

Общая концептуальная способность (CGA), оцениваемая с помощью DAS-II Неврологическое тестирование детей с MPS II обычно демонстрирует нормальные результаты в первые 2-3 года жизни; однако в возрасте приблизительно 3-4 года состояние детей, у которых должна проявиться задержка развития, начинает отклоняться от нормального развития и быстро ухудшается в течение нескольких лет, как правило, от 3 до 9 лет. Спонсор собрал данные, полученные в течение длительного периода с применением DAS-II в отсутствие лечения с применением идурсульфазы-ИТ у пациентов с MPS II и признаками когнитивных нарушений. Указанные данные были собраны в ходе неинтервенционного скринингового исследования пациентов с MPS II и в период до начала лечения в указанном первом исследовании на людях. Полученные данные показывают ежегодное снижение общей концептуальной способности (GCA) пациентов на 13-14 баллов. Показатель GCA у здоровых детей в среднем составляет 100 баллов со стандартным отклонением 15 баллов; поэтому ежегодное снижение на 13-14 баллов представляет собой серьезное ухудшение. Указанные данные согласуются с литературными проспективно собранными данными.

В данном исследовании I/II фазы оценивали клиническую активность интратекально вводимой идурсульфазы-ИТ в сочетании с внутривенной терапией по отношению к состоянию развития нервной системы пациента в течение 6 месяцев с применением стандартизированных систем оценки когнитивных, адаптивных, моторных и управляющих функций, подходящих для применения у детей с синдромом Хантера. После выполнения исходных оценок 7 из 12 пациентов, получавших идурсульфазу-ИТ, не могли последовательно проходить тестирование с помощью инструмента DAS-II с целью оценки их нейрокогнитивных функций с течением времени. Недостаточность нейрокогнитивных функций, не позволявшая указанным пациентам выполнять последовательные оценки, в основном объяснялась критериями включения в исследование, позволявшими зачислять пациентов с тяжелой формой заболевания и установленным нейрокогнитивным нарушением, обусловленным тем, что данное исследование, главным образом, предназначалось для оценки безопасности, а не эффективности. Из 4 пациентов в группе, не получавшей лечения, 3 пациента не поддавались тестированию с помощью DAS-II в конце 6-месячного периода, а при посещении в конце исследования для тестирования одного из пациентов, не получавших лечения, эксперт отсутствовал.

Оценки, собранные в течение длительного времени с применением 2-й версии теста дифференциальных способностей (DAS-II), были получены у 5 пациентов, причем время последующего наблюдения варьировалось от 6 месяцев до 24 месяцев. Показано, что у четырех из указанных пациентов, получавших 10 или 30 мг идурсульфазы-ИТ, стандартный показатель общей концептуальной способности DAS-II был стабилен или увеличен. В частности, у одного ребенка с тяжелым синдромом Хантера в семейном анамнезе показатель поддерживался до 2 лет после начала интратекальной заместительной ферментной терапии.

Обобщенная информация о типичных результатах нейрокогнитивного тестирования представлена в табл. 10. Данные включают как показатель общей концептуальной способности (GCA), измеряемый с помощью DAS-II, так и фактор развития (DQ), измеряемый с помощью BSID-III. Основным когнитивным тестом, использованным в ходе исследования, являлась DAS-II; BSID-III являлся запасным вариантом для использования у детей с более тяжелой формой заболевания. Каждую оценку когнитивных функций начинали с попытки выполнить DAS-II; однако если ребенок не мог ответить даже на простейшие вопросы DAS-II, в качестве альтернативы применяли BSID. Как показано в табл. 10, из 5 пациентов, которых можно было подвергать последовательным оценкам DAS-II, 3 демонстрировали признаки стабилизации нейрокогнитивной способности после 6 месяцев лечения с применением идурсульфазы-ИТ при приеме 10-мг или 30-мг доз. Четвертый пациент (при дозе 10 мг) демонстрировал переменные результаты в ходе исследования, а пятый пациент, который получал 1 мг, испытывал снижение когнитивных функций в течение 6-месячного периода исследования.

Таблица 10

Сводные результаты нейрокогнитивных тестов (DAS-II GCA или BSID-III DQ)

Номер пациента	Доза	Исходный уровень <sup>a</sup>	Неделя 3 <sup>b</sup>	Неделя 15	Неделя 27	Комментарии эксперта
045-013-0004	10 мг	ДО	74	63	79	DAS-II
045-013-0011	10 мг	47	33	41	36	DAS-II тестирование затруднено
045-013-0005	10 мг	46	ДО	ДО	ДО	DAS-II тестирование невозможно
045-013-0014	10 мг	70	69	79	76	DAS-II Стабилизирован, хорошо выполняет задания
045-013-0006	30 мг	41	ДО	ДО	ДО	DAS-II Тестирование невозможно
045-013-0003	30 мг	59	63	54	62	DAS-II Стабилизация после документированного снижения
045-014-1009	30 мг	43 (DQ)	40 (DQ)	ДО	44 (DQ)	BSID-III
045-014-1007	30 мг	22 (DQ)	13 (DQ)	19 (DQ)	ДО	BSID-III
045-013-0017	1 мг	66	50	45	41	DAS-II Тяжелые нарушения
045-014-1008	1 мг	47 (DQ)	49 (DQ)	46 (DQ)	43 (DQ)	BSID-III
045-014-1006	1 мг	16 (DQ)	15 (DQ)	ДО	12 (DQ)	BSID-III
045-013-0024	1 мг	ДО	ДО	ДО	ДО	Тестирование невозможно
045-013-0007	Без лечения	49	ДО	НП	ДО	Тестирование невозможно
045-013-0019	Без лечения	34	32	НП	ДО	Эксперт отсутствовал при посещении в конце исследования
045-013-0021	Без лечения	ДО	ДО	НП	ДО	Тестирование невозможно
045-014-1001	Без лечения	19	ДО	НП	ДО	Тестирование невозможно

<sup>a</sup> Исходный уровень является последним скрининговым измерением перед датой рандомизации.

<sup>b</sup> Для пациентов, получавших лечение, оценку выполняли после имплантации устройства, но до приема первой дозы идурсульфазы-ИТ.

Сокращения: DQ = фактор развития; ДО = данные отсутствуют, попытка провести тест не осуществлялась или ребенок не мог сотрудничать; НП = неприменимо.

Несколько детей в исследовании вообще не смогли пройти оценку когнитивной деятельности или могли проходить только BSID-III (табл. 10).

У некоторых пациентов также были выявлены признаки стабилизации или улучшения адаптивной (оцениваемой с помощью инструмента SIB-R) и управляющей функции (оцениваемой с помощью BRIEF) поведения после получения лечения с применением идурсульфазы-ИТ в течение 6 месяцев.

Ожидается, что более четкая демонстрация благоприятного клинического эффекта интратекальной терапии с применением идурсульфазы-ИТ по отношению к сохранению развития функций нервной системы может быть более очевидной при большей продолжительности лечения больных, начинающих ИТ-терапию в начале спада развития нервной системы.

Широкая независимость, оцениваемая с помощью SIB-R.

Оценку широкой независимости (VI) осуществляли в течение некоторого времени с помощью пересмотренной шкалы независимого поведения (SIB-R). Показатель широкой независимости получают ана-



логично показателю IQ; его среднее значение в популяции составляет 100, а стандартное отклонение составляет 15. Типичные результаты показаны в табл. 11. После лечения у нескольких пациентов было отмечено улучшение показателя широкой независимости.

Индивидуальные графики других поддоменов адаптивного поведения пациентов в зависимости от фактического возраста, включающие SIB-R (например, моторные навыки, навыки социального взаимодействия/общения, личные бытовые навыки, навыки жизни в обществе), в целом были аналогичны графикам навыков широкой независимости (данные не представлены).

Таблица 11

Сводные результаты тестов развития нервной системы (SIB-R VI)

Номер пациента	Доза	Исходный уровень <sup>a</sup>	Неделя 3 <sup>b</sup>	Неделя 15	Неделя 27	Комментарии эксперта
045-013-0004	10 мг	68	77	ДО	93	
045-013-0011	10 мг	52	24	24	18	
045-013-0005	10 мг	38	54	33	30	
045-013-0014	10 мг	58	54	70	70	
045-013-0006	30 мг	29	18	21	13	
045-013-0003	30 мг	53	53	50	50	
045-014-1009	30 мг	17	17	ДО	23	
045-014-1007	30 мг	14	ND	ND	1	
045-013-0017	1 мг	56	59	ДО	44	
045-014-1008	1 мг	61	63	52	52	
045-014-1006	1 мг	11	14	ND	14	
045-013-0024	1 мг	40	ДО	15	ND	
045-013-0007	Без лечения	ДО	ДО	НП	ДО	Когнитивные ограничения пациента
045-013-0019	Без лечения	ДО	34	НП	32	
045-013-0021	Без лечения	ND	ND	НП	ND	
045-014-1001	Без лечения	ДО	ДО	НП	ДО	

<sup>a</sup> Исходный уровень является последним скрининговым измерением перед датой рандомизации.

<sup>b</sup> Для пациентов, получавших лечение, оценку выполняли после имплантации устройства, но до приема первой дозы идурсульфазы-ИТ.

Сокращения: VI = широкая независимость; ДО = данные отсутствуют, попытка провести тест не осуществлялась или ребенок не мог сотрудничать; НП = неприменимо; ND = число не получено.

Для оценки существования связи между когнитивными изменениями и поведенческими аспектами в повседневной жизни рассчитали коэффициенты корреляции между общей концептуальной способностью DAS-II и общим показателем широкой независимости SIB-R, а также поддоменами (см. табл. 12).

Таблица 12

Сводная информация по корреляции между выбранными когнитивными тестами - популяция ИТТ

Параметр 1	Параметр 2	Коэффициент корреляции
Стандартные показатели DAS-II GCA	Стандартные показатели DAS-II SNC	0,9482
Стандартные показатели DAS-II GCA	Стандартные показатели широкой независимости SIB-R	0,8087
Стандартные показатели DAS-II GCA	Стандартные показатели личных бытовых навыков SIB-R	0,5081
Стандартные показатели DAS-II GCA	Стандартные показатели навыков жизни в обществе SIB-R	0,7473
Стандартные показатели DAS-II GCA	Стандартные показатели навыков социального взаимодействия/общения SIB-R	0,7060
Стандартные показатели DAS-II GCA	Стандартные показатели моторных навыков SIB-R	0,5467

Примечание: Для учета повторных измерений использовали смешанные модели.

Как можно видеть в табл. 12, стандартные показатели DAS-II GCA и SIB-R VI хорошо коррелировали ( $R=0,8087$ ); кроме того, хорошая корреляция наблюдалась между GCA и стандартными показателями для других субдоменов SIB-R, которые совместно позволяют оценить способность ребенка к самостоятельным действиям. Указанные корреляции также показывают, что наблюдаемое улучшение когнитивных функций было более чем академическим по величине и действительно отражало меру улучшения способностей ребенка к самостоятельным действиям. Указанные высокие значения корреляции представляют собой важный аспект валидации DAS-II как клинически значимого средства оценки в популяции MPS II.

Совместно указанные данные демонстрируют, что интракeальное введение рекомбинантного фермента I2S могло эффективно лечить когнитивные нарушения у пациентов с синдромом Хантера. Ожидается, что большая продолжительность лечения и/или раннее вмешательство в спад развития нервной системы с применением идурсульфазы-ИТ могут быть особенно полезными для улучшения когнитивных функций, например, путем стабилизации или повышения показателя DAS-II у детей с когнитивными нарушениями, вызванными синдромом Хантера.

Хотя определенные соединения, композиции и способы, описываемые здесь, были специфически описаны в рамках определенных вариантов воплощения, следующие примеры служат только для иллюстрирования соединений согласно настоящему изобретению и не должны ограничиваться ими.

Применяемые здесь в описании и в прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа, если явно не указано другое, включают множественное число. Пункты формулы изобретения или описания, которые включают "или" между одним или более членами группы, считаются выполняющимися, если один, более одного или все члены группы присутствуют, используются или иным образом имеют отношение к данному продукту или процессу, если не указано противоположное или если иное не следует из контекста. Изобретение включает варианты воплощения, в которых присутствует, используется или иным образом имеет отношение к данному продукту или процессу строго один член группы. Настоящее изобретение также включает варианты воплощения, в которых присутствует, используется или другим образом относится к данному продукту или способу более чем один член или целая группа членов. Кроме того, следует понимать, что настоящее изобретение охватывает все варианты, комбинации и преобразования, в которых одно или более ограничений, элементов, условий, описательных выражений и др. из одного или более перечисленных пунктов формулы изобретения введено в другой пункт формулы изобретения, зависимый от того же основного пункта формулы изобретения (или, если значимо, любого другого пункта формулы изобретения), если не указано другое или если специалисту в данной области техники не очевидно, что может возникнуть противоречие или несоответствие. Когда элементы присутствуют в перечнях (например, группа Маркуша или аналогичная форма), следует понимать, что также раскрывается каждая подгруппа элементов, и любой элемент(ы) из данной группы можно удалить. Следует понимать, что обычно там, где настоящее изобретение или аспекты изобретения описываются как содержащие конкретные элементы, признаки и др., определенные варианты воплощения настоящего изобретения или аспекты изобретения состоят из или в основном состоят из таких элементов, признаков и др. В целях упрощения в настоящем изобретении указанные варианты воплощения не были в каждом случае описаны настолько буквально. Следует также понимать, что любой вариант воплощения или ас-

пект настоящего изобретения можно в явной форме исключить из формулы изобретения, независимо от того, ограничено ли такое конкретное исключение в описании. Публикации, интернет-сайты и прочие справочные материалы, на которые ссылается настоящий документ в целях описания уровня техники в области изобретения и для предоставления дополнительных подробностей касательно его внедрения в практику, включены сюда посредством ссылки.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения когнитивного нарушения, связанного с синдромом Хантера, включающий интратекальное введение субъекту, нуждающемуся в лечении, рекомбинантного фермента идуронат-2-сульфатазы (I2S) в терапевтически эффективной дозе, составляющей от 10 до 30 мг, с интервалом введения один раз в месяц в течение периода лечения, составляющего более 6 месяцев, где указанный субъект младше 5 лет; и

оценку одной или более когнитивных, адаптивных, моторных и/или исполнительных функций по сравнению с контролем в течение или после указанного периода лечения для мониторинга и/или оптимизации лечения.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанная терапевтически эффективная доза, регулярно вводимая с указанным интервалом, приводит к диапазону значений площади под кривой (ППК<sub>ss</sub>) рекомбинантного фермента I2S в сыворотке от приблизительно 200000 до приблизительно 1000000 мин нг/мл.

3. Способ по п.2, отличающийся тем, что ППК<sub>ss</sub> рекомбинантного фермента I2S в сыворотке находится в диапазоне от приблизительно 400000 до приблизительно 600000 мин нг/мл.

4. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанная терапевтически эффективная доза, регулярно вводимая с указанным интервалом, приводит к диапазону значений максимальной концентрации (C<sub>макс</sub>) рекомбинантного фермента I2S в сыворотке от приблизительно 50 до приблизительно 300 нг/мл.

5. Способ по п.4, отличающийся тем, что C<sub>макс</sub> рекомбинантного фермента I2S находится в диапазоне от приблизительно 80 до приблизительно 150 нг/мл.

6. Способ по п.1, отличающийся тем, что интратекальное введение осуществляют посредством люмбальной пункции.

7. Способ по п.1, отличающийся тем, что интратекальное введение осуществляют посредством резервуара Оммая.

8. Способ по п.1, отличающийся тем, что интратекальное введение осуществляют посредством периодического или непрерывного доступа к имплантированному устройству интратекальной доставки лекарственных препаратов (IDDD).

9. Способ по п.8, отличающийся тем, что интратекальное введение осуществляют посредством непрерывного доступа к имплантированному IDDD в течение более чем приблизительно 0,5, 1,0, 1,5 или 2 ч.

10. Способ по п.1, отличающийся тем, что одну или более когнитивных, адаптивных, моторных и/или управляющих функций оценивают по второму изданию шкал дифференциальных способностей (DAS-II).

11. Способ по п.10, отличающийся тем, что оценка по DAS-II является исходной оценкой, кластерной оценкой, стандартизированной оценкой, процентильным возрастным эквивалентом, коэффициентом развития или балльным показателем общей концептуальной способности (GCA).

12. Способ по п.10, отличающийся тем, что оценка по DAS-II является показателем GCA.

13. Способ по п.1, отличающийся тем, что одну или более когнитивных, адаптивных, моторных и/или управляющих функций оценивают по III версии шкал Бейли оценки раннего развития детей (BSID-III).

14. Способ по п.1, отличающийся тем, что интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к улучшенному показателю GCA.

15. Способ по п.14, отличающийся тем, что улучшенный показатель GCA находится в диапазоне 85-105.

16. Способ по п.1, отличающийся тем, что интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к стабилизации показателя GCA по сравнению с контролем.

17. Способ по п.1, отличающийся тем, что интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к стабилизации показателя GCA более чем на приблизительно 6 месяцев.

18. Способ по п.1, отличающийся тем, что интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к ежегодному снижению показателя GCA менее чем на приблизительно 13, 12, 11 или 10 баллов.

19. Способ по п.1, отличающийся тем, что интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S дополнительно приводит к улучшению или стабилизации одной или более адаптивных функций, оцениваемых по пересмотренным шкалам независимого поведения (SIB-R).

20. Способ по п.1, отличающийся тем, что интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S дополнительно приводит к улучшению или стабилизации одной или более управляющих функций, оце-

ниваемых по Опроснику Поведенческой Оценки Управляющих Функций (BRIEF®).

21. Способ по п.1, отличающийся тем, что показатель GCA или коэффициент развития BSID-III у субъекта, нуждающегося в лечении, до лечения составляет менее 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 15, 10 или не поддается оценке.

22. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанный контроль является показателем одной или более из когнитивных, адаптивных, моторных и/или исполнительных функций у субъекта до лечения.

23. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанный контроль является показателем одной или более из когнитивных, адаптивных, моторных и/или управляющих функций у контрольного субъекта с таким же заболеванием и состоянием развития без лечения.

24. Способ по п.1, отличающийся тем, что интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к улучшению коэффициента развития BSID-III по сравнению с контролем.

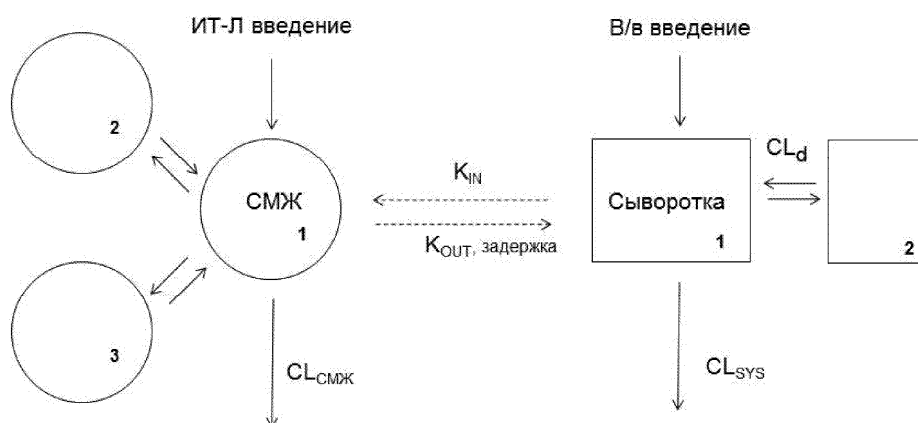
25. Способ по п.24, отличающийся тем, что улучшенный коэффициент развития BSID-III находится в диапазоне от 85 до 105.

26. Способ по п.24, отличающийся тем, что интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к стабилизации коэффициента развития BSID-III по сравнению с контролем.

27. Способ по п.24, отличающийся тем, что интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к стабилизации коэффициента развития BSID-III более чем на приблизительно 6 месяцев.

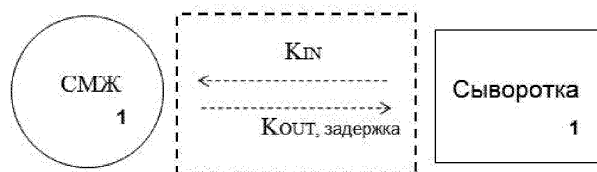
28. Способ по п.24, отличающийся тем, что интратекальное введение рекомбинантного фермента I2S приводит к ежегодному снижению коэффициента развития BSID-III менее чем на приблизительно 13, 12, 11 или 10 баллов.

### Конечные связанные структурные модели для I2S в сыворотке и СМЖ



Фиг. 1

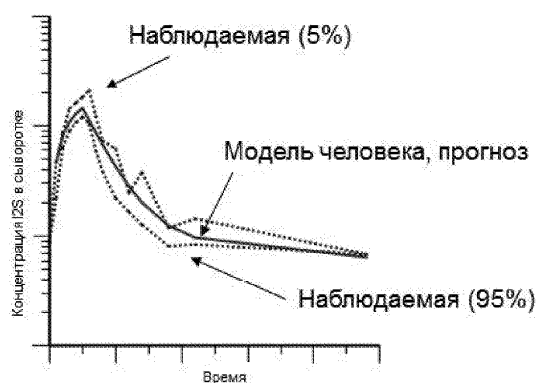
## Межкомpartmentный перенос между СМЖ и сывороткой



Параметр	Оценка	%BSV
$K_{IN}$ (1/ч)	NA	НП
$K_{OUT}$ (1/ч)	0.229	НП
Задержка (ч)	0.405	НП
F(%) (из СМЖ в системный кровоток)	42.7	НП

Фиг. 2

## 2-комpartmentная модель человека для I2S в сыворотке после в/в введения



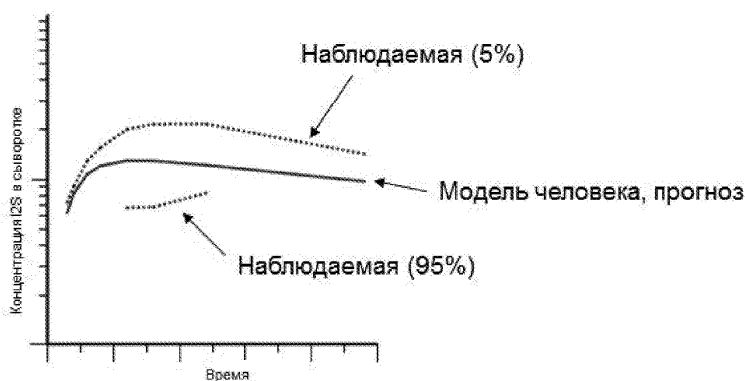
### Параметр в сыворотке

Параметр	Прогноз	Фактически	%PE
VSYS (мд)	749	16020	0.05
CLSYS (мл/ч)	678	4577	0.15

Подчеркивается консервативная природа аллометрического масштабирования

Фиг. 3

## 2-компарментная модель человека для I2S в сыворотке после ИТ-Л введения



### Параметр в сыворотке

Параметр	Прогноз <sup>*</sup>	Фактически	%PE
Ka (1/ч)	0.043	0.039	1.1
F	10.7	>100	0.1
Задержка	0.065	0.48	0.14

\* С поправкой на различие в соотношении масс головного мозга/тела

Фиг. 4

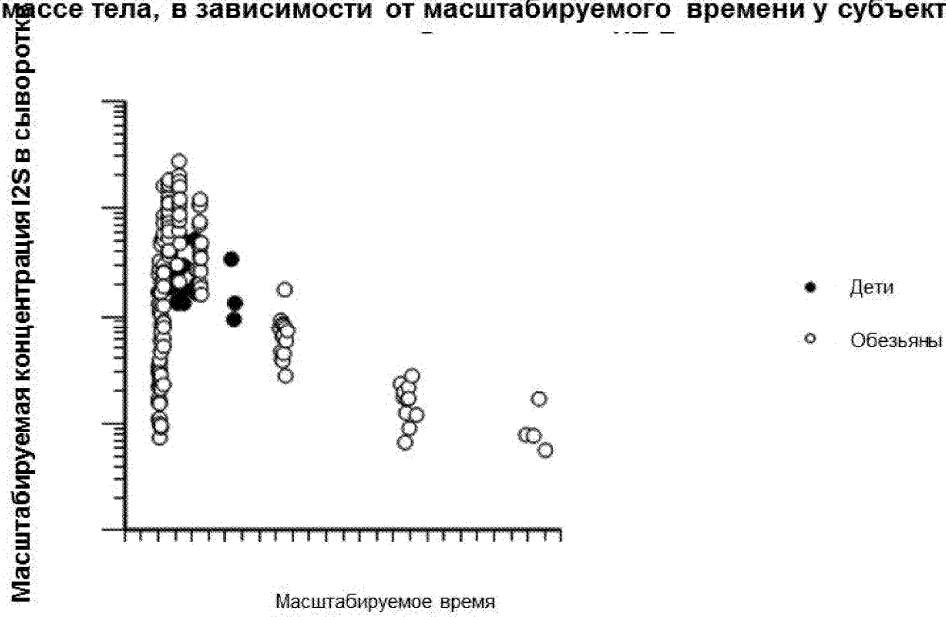
Аллометрически масштабируемые PopPK параметры у детей для ИТ-I2S после поправки на различие отношения масс головного мозга/тела между приматами, не являющимися людьми (NHP), и детьми.

Материал	Параметры	Оценка у обезьяны	Коэффициент масштабирования <sup>a</sup> [Масса тела человека/масса тела примата] <sup>b</sup>	Расчетные параметры у детей (< 6 лет) (Типичная масса 10 кг)	Расчетные параметры у подростков (6-17 лет) (Типичная масса 50 кг)
Сыворотка	Vc (мл)	99.2	3.66 или 18.3	363	1817
	Vp (мл)	310	3.66 или 18.3	1136	5678
	CL (мл/ч)	149	2.65 или 8.85	395	1319
	CLd (мл/ч)	90.4	2.65 или 8.85	239	800
СМЖ	V <sub>СМЖ</sub> (мл)	1.15	3.66 или 18.3	4	21
	V <sub>2</sub> (мл)	6.31	3.66 или 18.3	23	116
	V <sub>3</sub> (мл)	2.27	3.66 или 18.3	8	42
	CL <sub>СМЖ</sub> (мл/ч)	0.224	2.65 или 8.85	1	2
	CL <sub>2</sub> (мл/ч)	0.455	2.65 или 8.85	1	4
	CL <sub>3</sub> (мл/ч)	1.60	2.65 или 8.85	4	14
	K <sub>in</sub> (1/ч)	0.273	0.723 или 0.483	0.197	0.132
	F(%) (из системного кровотока в СМЖ)	0.0492	НП	0.0492	0.0492
	K <sub>out</sub> (1/ч)	0.124	0.723 или 0.483	K <sub>out</sub> *R = 0.043	0.0599
	Задержка(ч)	0.0665	NA	0.0665	0.0665
F(%) (из СМЖ в системный кровоток)	51.1	НП	F* R = 10.7	51.1	

<sup>a</sup> При использовании массы тела 2,73 кг у обезьян и соответствующей массы тела человека. <sup>b</sup> = 0,75 для выведения, 1 для объемов и -0,25 для скоростей. R = 0,209, соотношение масс головного мозга/тела у обезьян и детей

Фиг. 5

Элементарный график Дедрика концентрации I2S в сыворотке, масштабируемой по массе тела, в зависимости от масштабируемого времени у субъектов

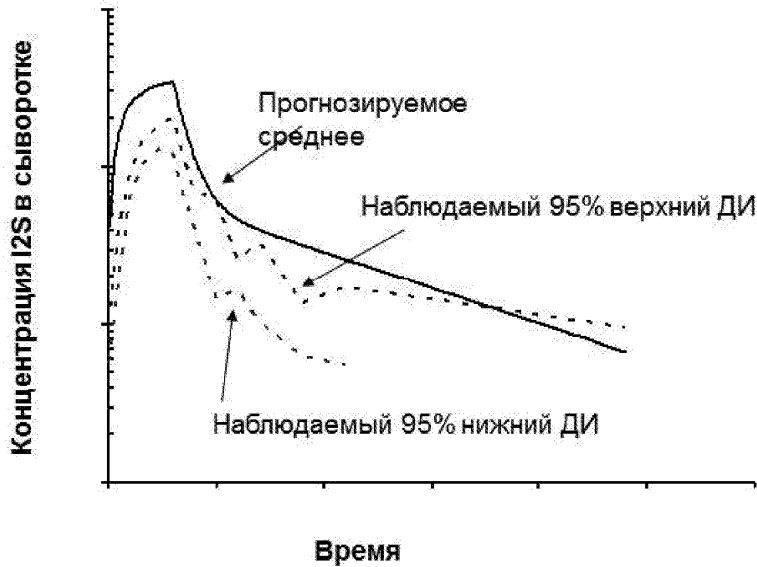


<sup>a</sup> При использовании массы тела 2,73 кг у обезьян и соответствующей массы тела человека,  $b = 0,75$  для выведения, 1 для объемов и -0,25 для скоростей.

<sup>c</sup> Параметры масштабировали по медианной массе тела (20,6 кг) у клинических субъектов-людей

Фиг. 6

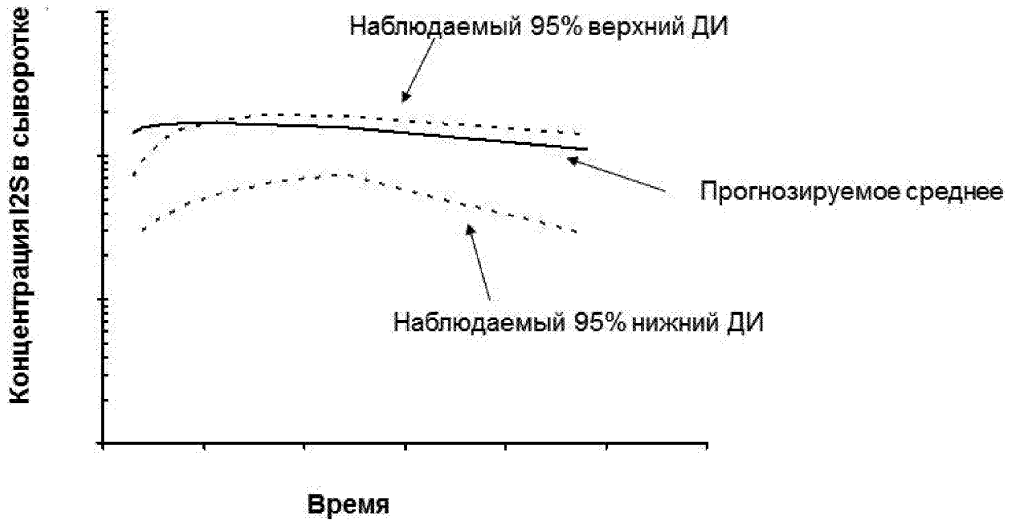
Профиль "наблюдаемая и прогнозируемая концентрация I2S в сыворотке - время" у субъектов детского возраста после однократного в/в вливания I2S (0,5 мг/кг).



Прогнозируемый профиль после в/в введения хорошо прогнозировался с помощью масштабируемой модели NS.

Фиг. 7

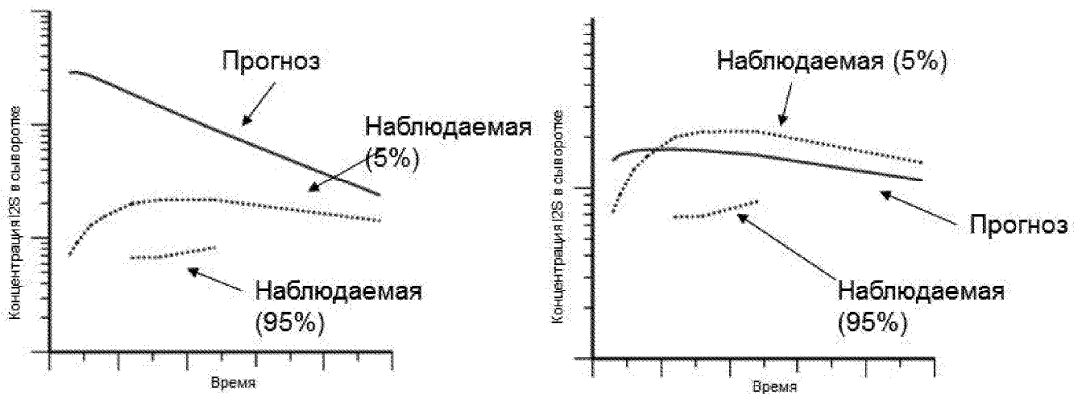
**Профиль "наблюдаемая и прогнозируемая концентрация I2S в сыворотке -время" у субъектов детского возраста после однократного 10-мг ИТ-Л введения.**



Применение поправки на отношение масс головного мозга/тела улучшало прогноз.

Фиг. 8

**Профиль "наблюдаемая и прогнозируемая концентрация I2S в сыворотке -время" у субъектов детского возраста после однократного 10-мг ИТ-Л введения.**



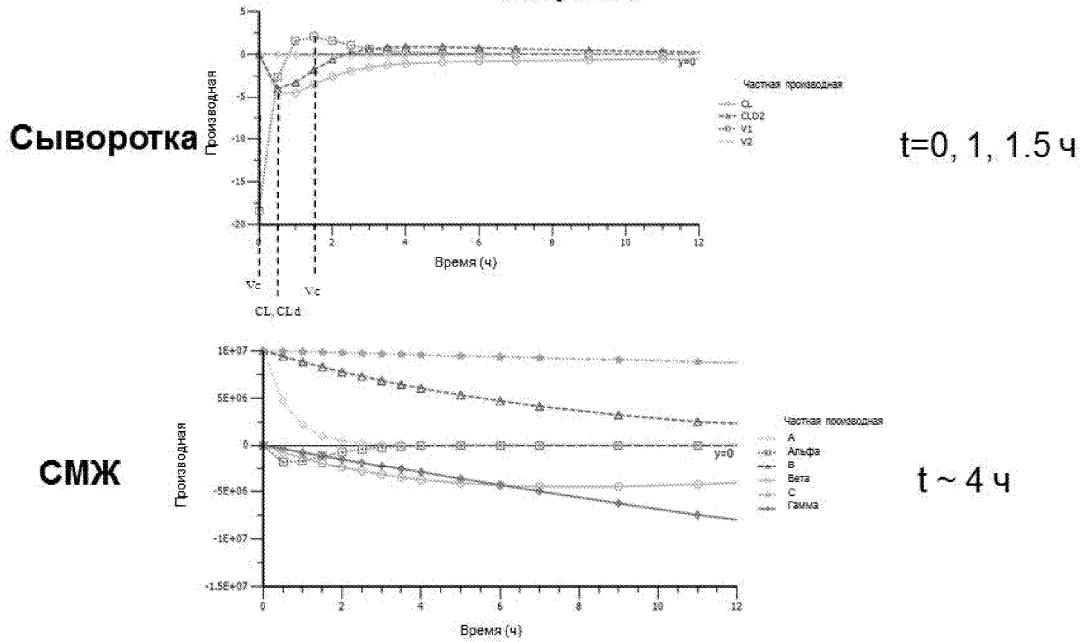
- [ Поправка на различие отношения масс головного мозга/тела ]

+ [ Поправка на различие отношения масс головного мозга/тела ]

Фиг. 9

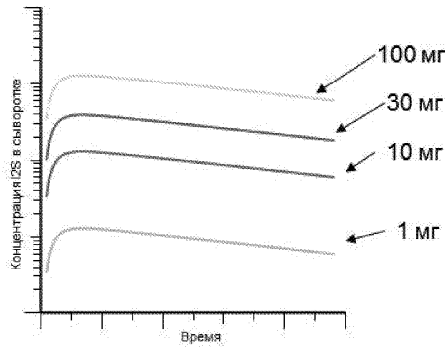


**Оптимальный пробоотбор в сыворотке и СМЖ у субъектов детского возраста**



Фиг. 10

**Моделирование концентрации I2S в сыворотке после ИТ-Л введения 1, 10, 30 и 100 мг (с использованием модели человека).**

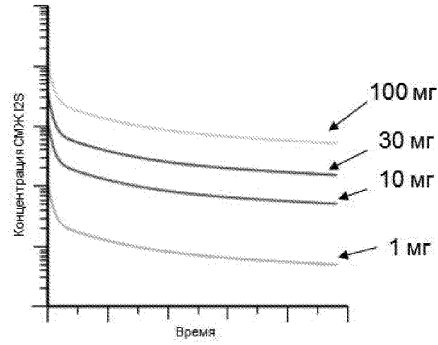


**Прогнозируемое воздействие I2S в сыворотке ребенка.**

Доза (мг)	$C_{\text{макс}}$ (нг/мл)	$AUC_{0-\infty}$ (нг·ч/мл)
1	13.0	1315
10	130	13150
30	390	39449
100	1300	131495

Фиг. 11

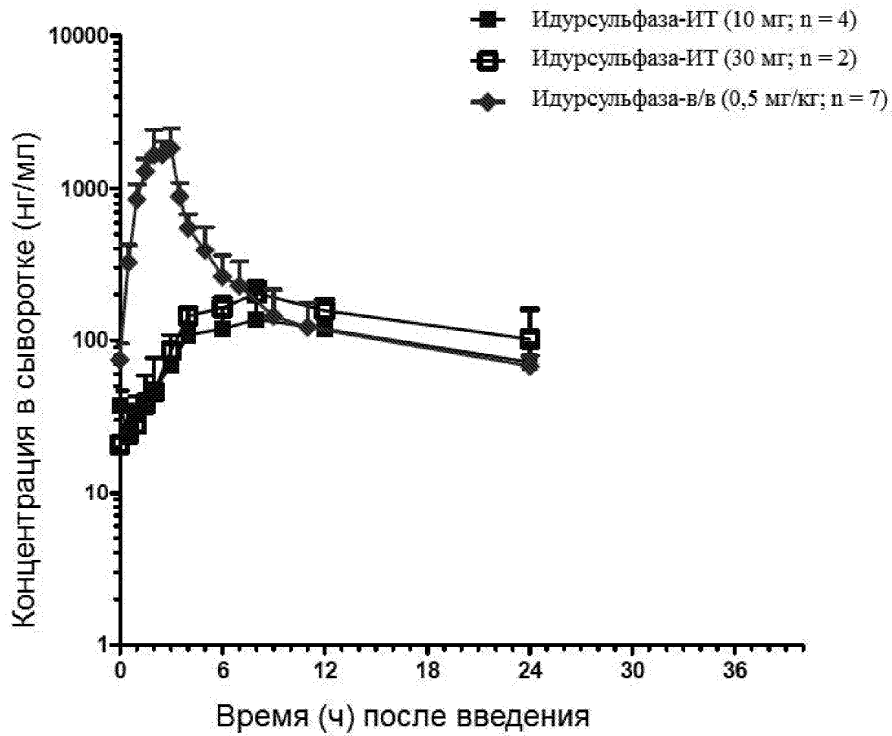
Моделирование концентрации I2S в СМЖ после ИТ-Л введения 1, 10, 30 и 100 мг (с использованием аллометрической модели).



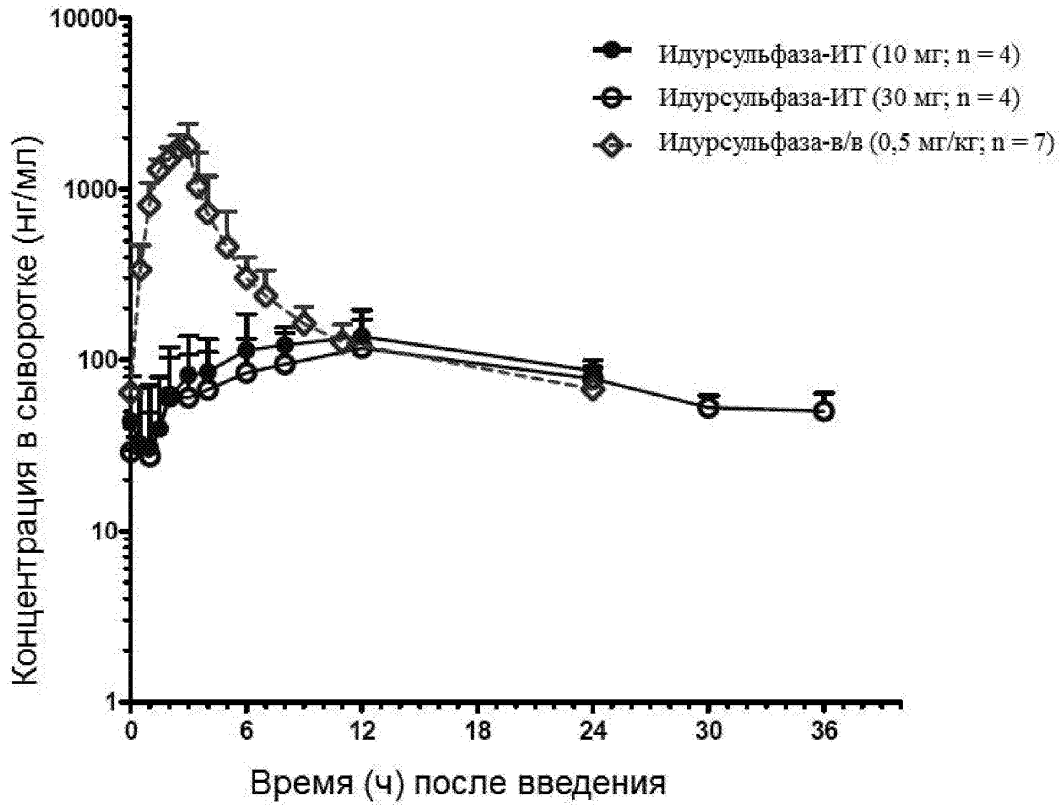
Прогнозированное воздействие I2S в СМЖ

Доза (мг)	$C_0$ (нг/мл)	ППК <sub>0-∞</sub> (нг·ч/мл)
1	103179	1315724
10	1031792	13157240
30	3095377	39471716
100	10317917	1.32E+08

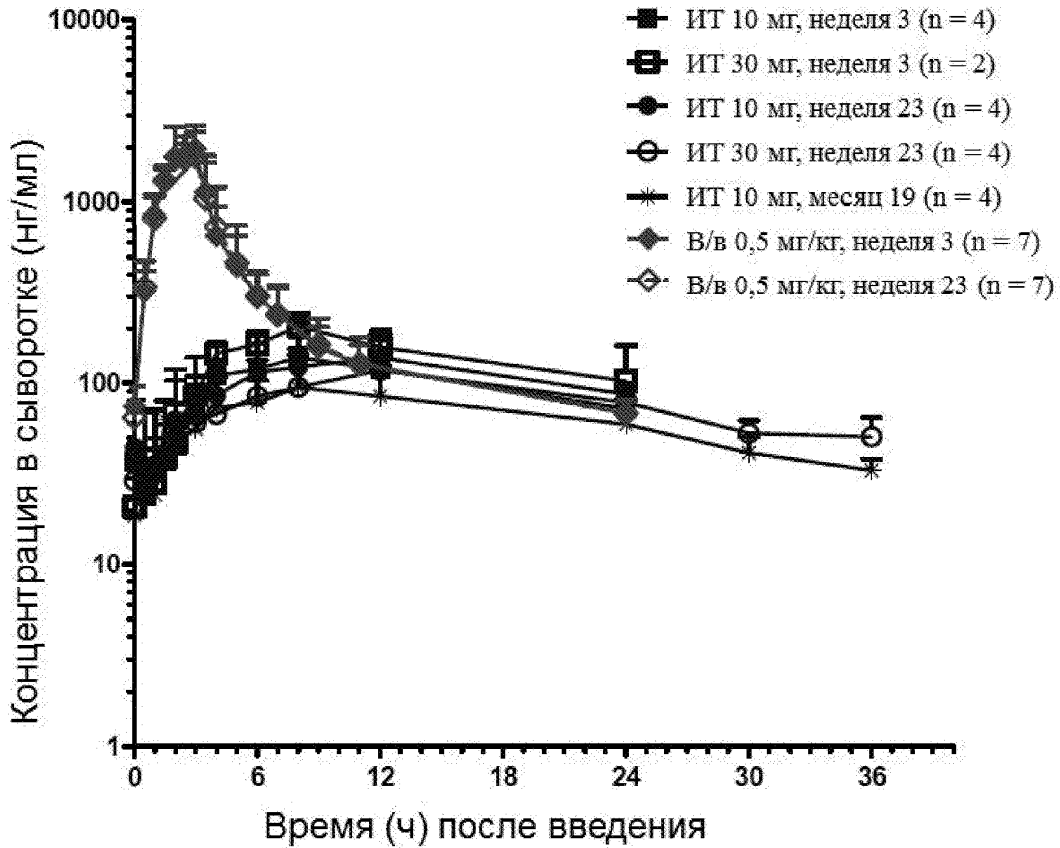
Фиг. 12



Фиг. 13

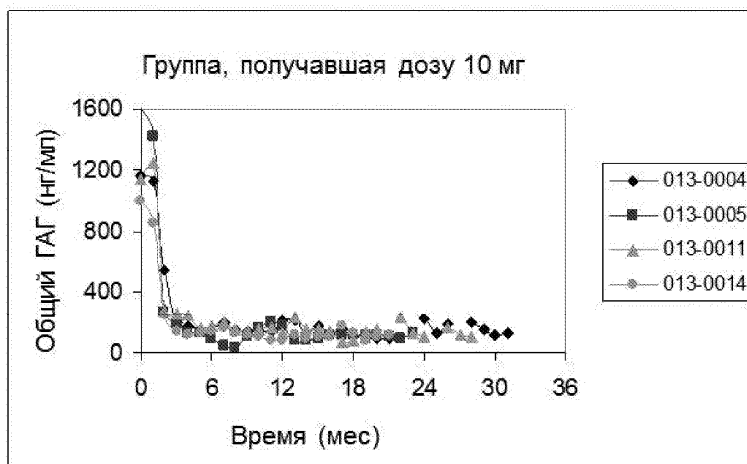


Фиг. 14



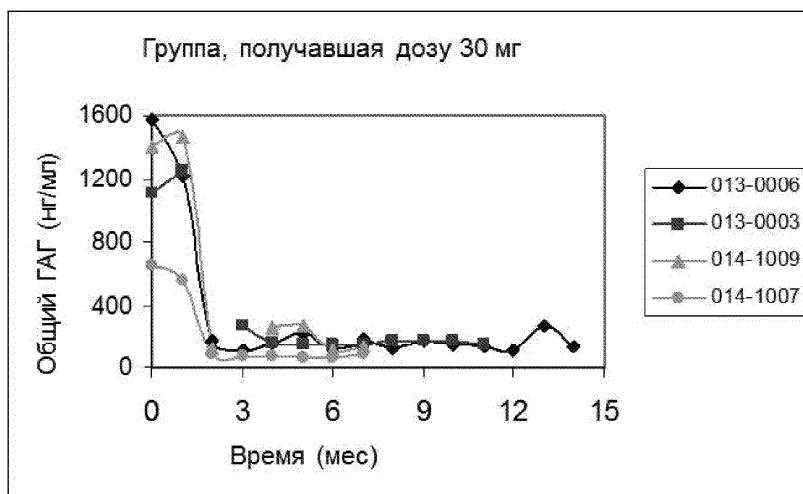
Фиг. 15

**Уровни ГАГ в спинномозговой жидкости для группы, получавшей 10 мг  
(0-36 месяцев)**

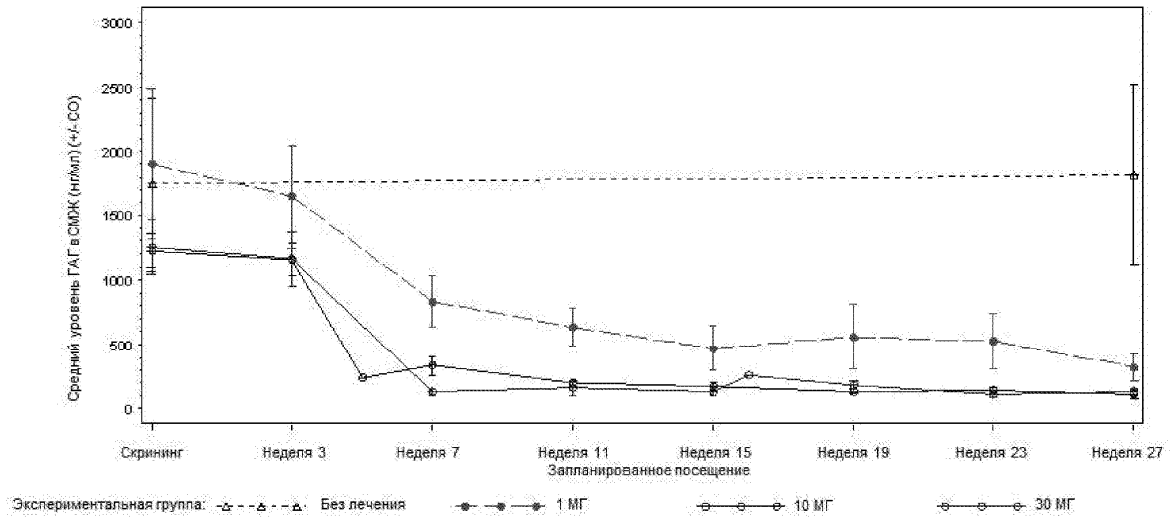


Фиг. 16

**Уровни ГАГ в спинномозговой жидкости для группы, получавшей 30 мг  
(0-15 месяцев)**

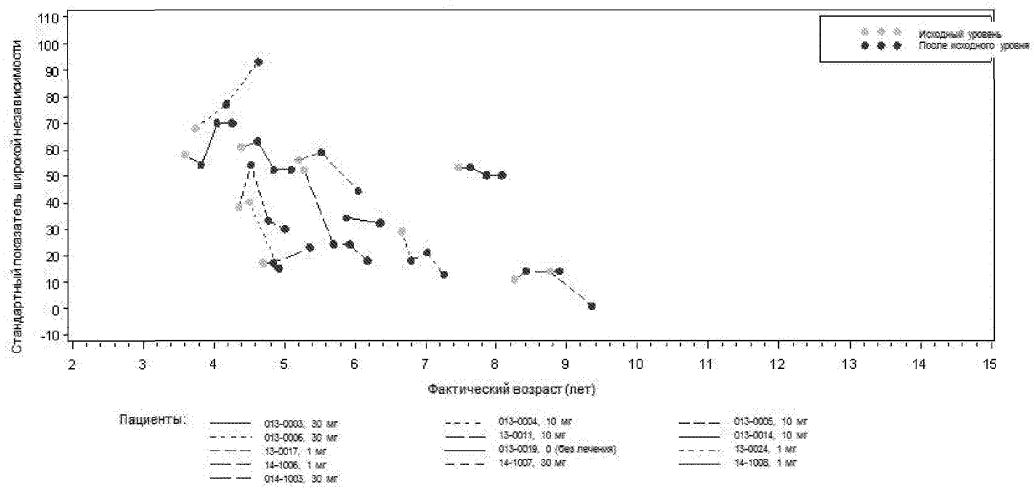


Фиг. 17

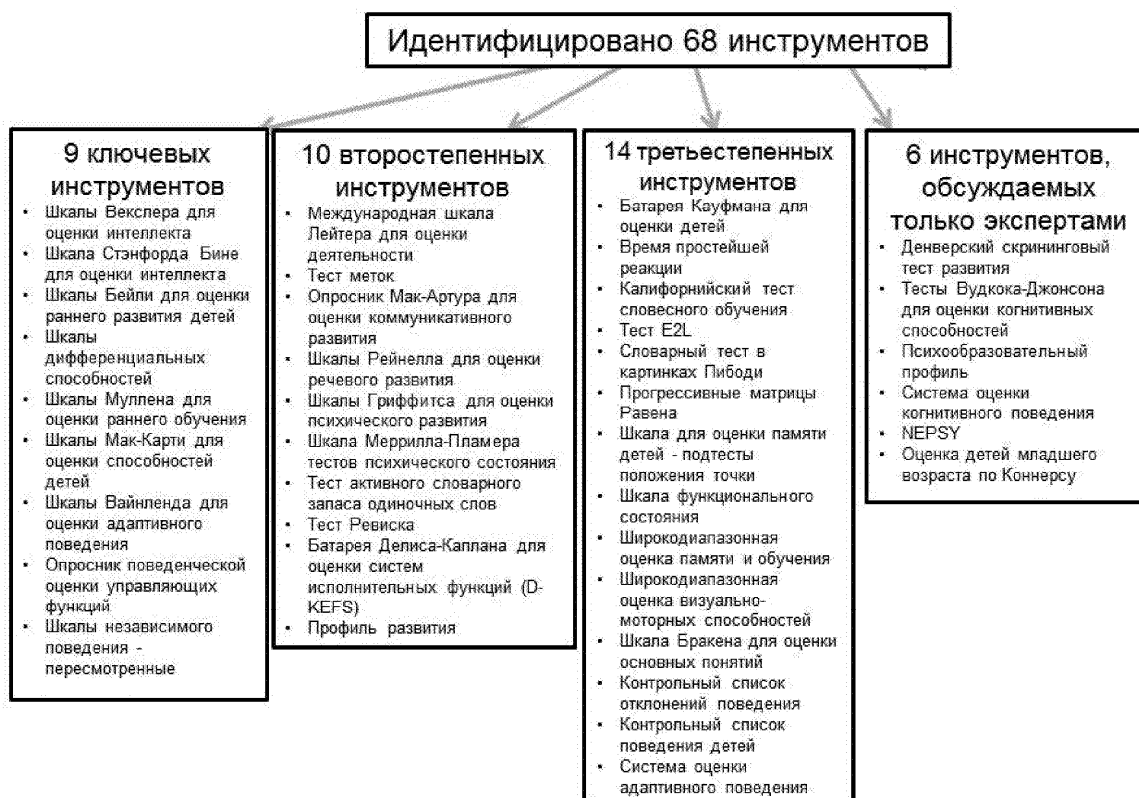


Фиг. 18

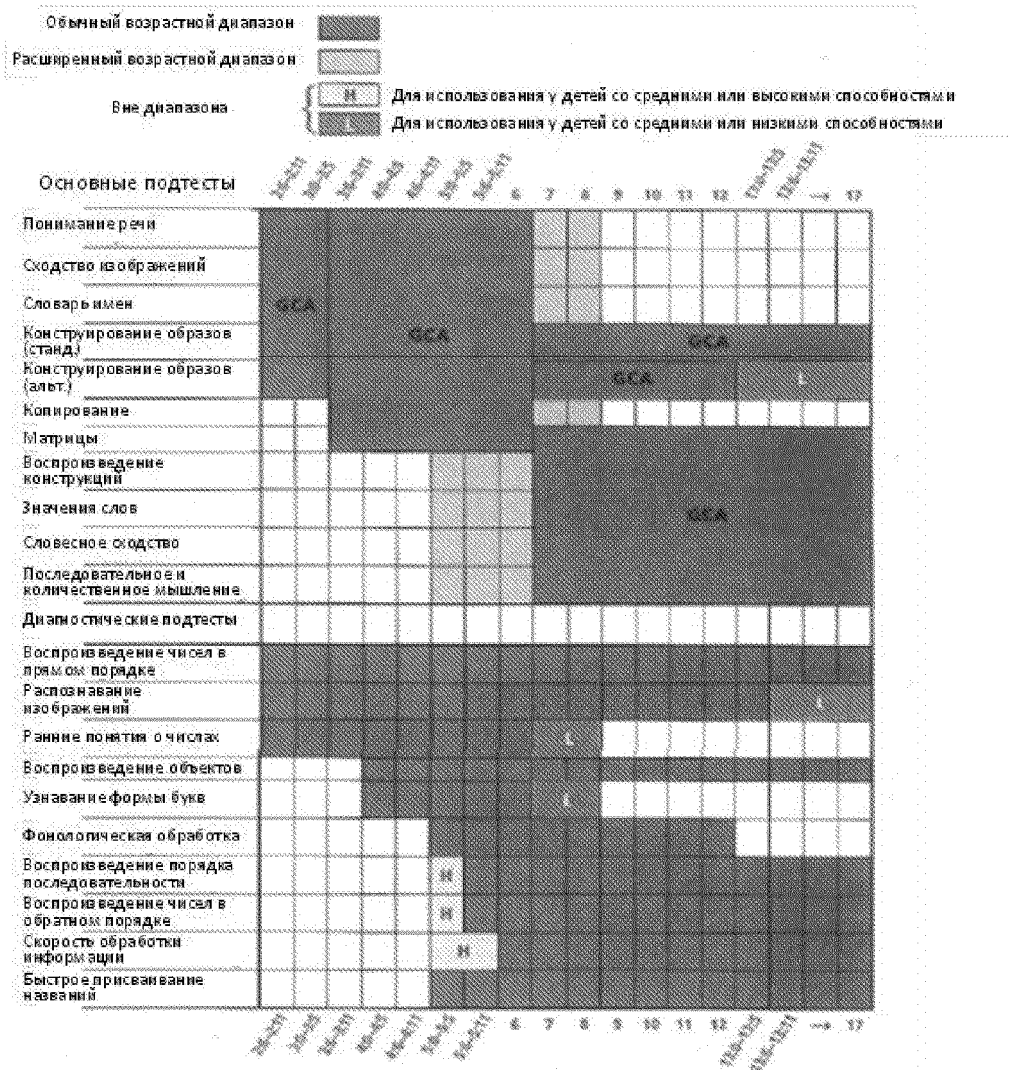
### Показатель широкой независимости



Фиг. 19



Фиг. 20



Фиг. 21

