

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202090480** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.07.20

(51) Int. Cl. *A61K 38/24* (2006.01)
A61P 15/08 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.08.31

(54) КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ КОНТРОЛИРУЕМОЙ СТИМУЛЯЦИИ ЯИЧНИКОВ

(31) 17189119.5

(32) 2017.09.01

(33) EP

(86) PCT/EP2018/073442

(87) WO 2019/043143 2019.03.07

(71) Заявитель:
ФЕРРИНГ Б.В. (NL)

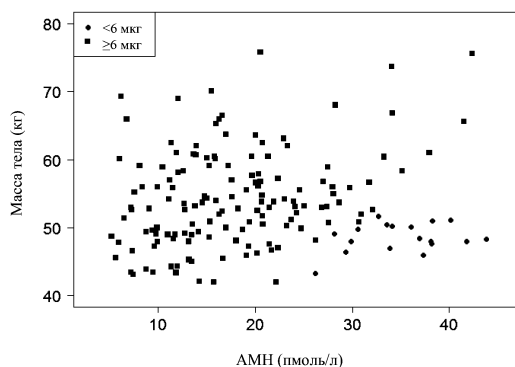
(72) Изобретатель:

Арк Сазз Джоан-Карлз (US), Хельмгор
Лисбет, Клейн Бьярке Мирнер (DK)

(74) Представитель:

Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В. (RU)

(57) Препараты, включающие FSH, например рекомбинантный FSH, для применения в лечении бесплодия у пациентов, имеющих высокий АМН и низкую массу тела.



A1

202090480

202090480

A1

КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ КОНТРОЛИРУЕМОЙ СТИМУЛЯЦИИ ЯИЧНИКОВ

Настоящее изобретение относится к композициям и фармацевтическим продуктам для лечения бесплодия.

Методики вспомогательных репродуктивных технологий (ART), такие как экстракорпоральное оплодотворение (IVF), хорошо известны. В указанных методиках ART обычно требуется стадия контролируемой овариальной стимуляции (COS), при котором группу фолликулов стимулируют до полной зрелости. Стандартные схемы COS включают введение гонадотропинов, таких как фолликулостимулирующий гормон (FSH), отдельно или в комбинации с лютеинизирующим гормоном (LH) для стимуляции развития фолликулов, обычно с введением аналога GnRH (гонадотропин-рилизинг-гормона) до и/или во время стимуляции для предотвращения преждевременного выброса LH. Фармацевтические композиции, обычно используемые для COS, включают рекомбинантный фолликулостимулирующий гормон (rFSH), включая Rekovelle® и Gonal F, FSH, полученный из мочи, рекомбинантные препараты FSH + LH, менотрофин, полученный из мочи, [человеческий менопаузальный гонадотропин (hMG)] и высокоочищенный человеческий менопаузальный гонадотропин (HP-hMG). IVF может быть ассоциировано с риском синдрома гиперстимуляции яичников (OHSS), который в тяжелых случаях может представлять угрозу для жизни.

Способность предсказать возможный ответ женщин на контролируемую овариальную стимуляцию (COS) может позволить разработать индивидуальные протоколы COS. Такие индивидуальные протоколы могут, например, снизить риск возникновения OHSS у женщин, у которых прогнозируется чрезмерный ответ на стимуляцию, и/или улучшить исходы беременности у женщин, относящихся к группе со слабым ответом. Концентрация антимюллерового гормона (AMH) в сыворотке в настоящее время считается надежным маркером резерва яичников. Снижение уровней AMH коррелирует со сниженным ответом яичников на гонадотропины во время COS. Кроме того, высокие уровни AMH являются хорошим предиктором избыточного ответа яичников и индикатором риска OHSS.

В предварительном исследовании женщин в возрасте до 35 лет, проходящих ART, алгоритм дозирования CONSORT (включающий базальный FSH, BMI (индекс массы тела), возраст и AFC (подсчет числа антральных фолликулов)) был использован для прогнозирования оптимальной начальной дозы FSH для COS у женщин с риском развития

OHSS (Olivennes et. al., 2009). Индивидуализация дозы позволила добиться адекватного выхода яйцеклеток и хорошего процента беременностей. Тем не менее, были высокие показатели отмены в группе с низкой дозой (75 IU (Международных единиц) FSH) из-за неадекватного ответа, и OHSS действительно имел место у значительной части пациентов.

Поэтому существует необходимость в индивидуальных протоколах COS, которые обеспечивают адекватный ответ на стимуляцию и/или сниженный риск OHSS.

Как указано выше, стандартные протоколы COS могут включать введение FSH. FSH естественным образом секретируется передней долей гипофиза и служит для поддержки развития фолликулов и овуляции. FSH содержит альфа-субъединицу из 92 аминокислот, также общую для других гликопротеиновых гормонов LH и CG (хорионического гонадотропина), и бета-субъединицу из 111 аминокислот, уникальную для FSH, которая придает биологическую специфичность гормону (Pierce and Parsons, 1981). Каждая субъединица подвергается посттрансляционной модификации путем добавления сложных углеводных остатков. Обе субъединицы несут 2 сайта для N-связанного присоединения гликанов, альфа-субъединица - по аминокислотам 52 и 78 и бета-субъединица - по аминокислотным остаткам 7 и 24 (Rathnam and Saxena, 1975, Saxena and Rathnam, 1976). Таким образом, FSH гликозилируется до примерно 30% по массе (Dias and Van Roey, 2001, Fox et al., 2001).

FSH, выделенный из мочи женщин в постменопаузе, много лет использовали для лечения бесплодия; как для содействия овуляции при естественном размножении, так и для обеспечения яйцеклеток для технологий вспомогательной репродукции. До недавнего времени единственные одобренные рекомбинантные продукты FSH (rFSH) для стимуляции яичников, такие как фоллитропин альфа (GONAL-F, Merck Serono / EMD Serono) и фоллитропин бета (PUREGON / FOLLISTIM, MSD / Schering-Plough), были получены из клеточной линии яичников китайского хомячка (CHO).

Существует значительная гетерогенность, связанная с препаратами FSH, которая связана с различиями в количестве различных присутствующих изоформ. Отдельные изоформы FSH имеют идентичные аминокислотные последовательности, но различаются по степени их посттрансляционной модификации; конкретные изоформы характеризуются гетерогенностью углеводных ветвящихся структур и различным количеством включенной сиаловой кислоты (концевого сахара), оба из которых, по-видимому, влияют на специфическую биологическую активность изоформ.

Гликозилирование природного FSH очень сложное. Гликаны в FSH гипофиза естественного происхождения могут содержать широкий спектр структур, которые могут

включать комбинации гликанов с одной, двумя, тремя и четырьмя ветвями (Pierce and Parsons, 1981. Ryan *et al.*, 1987. Baenziger and Green, 1988). Гликаны могут нести дополнительные модификации: фукозилирование остова, глюкозамин в точках ветвления, удлинение цепи ацетиллактозамином, частичное или полное сиалирование, сиалирование с помощью $\alpha 2,3$ и $\alpha 2,6$ связей, а также замещение галактозы сульфатированным галактозамином (Dalpathado *et al.*, 2006). Кроме того, существуют различия в распределении гликановых структур по отдельным сайтам гликозилирования. Сравнимый уровень сложности гликана был обнаружен в FSH, полученном из сыворотки индивидуумов и из мочи женщин в постменопаузе (Wide *et al.*, 2007).

Гликозилирование рекомбинантных продуктов FSH отражает спектр гликозилтрансфераз, присутствующих в линии клеток-хозяев. Имеющиеся в продаже продукты rFSH, полученные из генетически модифицированных клеток яичника китайского хомячка (клеток CHO), имеют более ограниченный спектр модификаций гликана, чем те, которые встречаются в продуктах естественного происхождения. Примеры сниженной гетерогенности гликанов, обнаруженные в rFSH, имеющем происхождение из клеток CHO, включают отсутствие глюкозамина в точках ветвления и пониженное количество фукозилирования остова и удлинения ацетиллактозамином (Hard *et al.*, 1990). Кроме того, клетки CHO способны добавлять сиаловую кислоту, только используя связи $\alpha 2,3$ (Kagawa *et al.*, 1988, Takeuchi *et al.*, 1988, Svensson *et al.*, 1990); rFSH, полученный из клеток CHO, включает только $\alpha 2,3$ -связанную сиаловую кислоту и не включает $\alpha 2,6$ -связанную сиаловую кислоту.

Таким образом, FSH, полученный из клеток CHO, отличается от FSH естественного происхождения (например, FSH гипофиза / сыворотки / мочи человека), который содержит гликаны со смесью $\alpha 2,3$ и $\alpha 2,6$ -связанной сиаловой кислоты с преобладанием первой.

Авторы настоящего изобретения разработали рекомбинантный FSH, полученный из линии клеток человека, который является предметом международной патентной заявки № PCT/GB2009/000978, опубликованной как WO2009/127826A. Рекомбинантный FSH со смесью как $\alpha 2,3$, так и $\alpha 2,6$ -связанной сиаловой кислоты получали путем конструирования линии клеток человека для экспрессии как rFSH, так и $\alpha 2,3$ -сиалилтрансферазы. Экспрессированный продукт является очень кислым и содержит смесь как $\alpha 2,3$ -, так и $\alpha 2,6$ -связанных сиаловых кислот; последние обеспечиваются эндогенной сиалилтрансферазной активностью. Обнаружили, что тип присоединения сиаловой кислоты, $\alpha 2,3$ - или $\alpha 2,6$ -, может оказывать существенное влияние на биологический

клиренс FSH. Рекомбинантный FSH со смесью $\alpha 2,3$ - и $\alpha 2,6$ -связанной сиаловой кислоты имеет два преимущества по сравнению с rFSH, экспрессируемым в обычных клетках CHO: во-первых, материал является более высоко сиалированным из-за объединенных активностей двух сиалилтрансфераз; и во-вторых, материал более похож на природный FSH. Это, вероятно, будет более биологически приемлемым по сравнению с рекомбинантными продуктами, имеющими происхождение из клеток CHO, которые продуцируют только $\alpha 2,3$ -связанную сиаловую кислоту (Kagawa et al, 1988, Takeuchi et al, 1988, Svensson et al., 1990) и имеют сниженное содержание сиаловой кислоты (Ulloa-Aguirre et al. 1995., Andersen et al. 2004).

Аминокислотная последовательность рекомбинантного FSH, полученного из линии клеток человека, которая является предметом международной патентной заявки № PCT/GB2009/000978, опубликованной как WO2009/127826A, является нативной последовательностью и идентична природному FSH человека и существующим продуктам rFSH, имеющим происхождение из CHO. Однако авторы настоящего изобретения обнаружили, что рекомбинантные продукты FSH человеческого происхождения (то есть рекомбинантный FSH, продуцируемый или экспрессируемый в линии клеток человека, например, произведенный конструированной линией клеток человека), которые имеют смесь как $\alpha 2,3$, так и $\alpha 2,6$ -связанной сиаловой кислоты, могут быть особенно эффективны при использовании в протоколах COS (например, индивидуализированных).

13 декабря 2016 года Европейская комиссия (ЕС) предоставила разрешение на продажу REKOVELLE® (фоллитропин дельта, также известный как FE999049), рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона, имеющего происхождение из линии клеток человека (rFSH человека), для использования в контролируемой овариальной стимуляции для развития множества фолликулов у женщин, подвергающихся вспомогательным репродуктивным технологиям (ART), таким как экстракорпоральное оплодотворение (IVF) или интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов (ICSI). REKOVELLE® является первым rFSH, полученным из линии клеток человека. Продукт REKOVELLE® (фоллитропин дельта) получают способами, раскрытыми в международной заявке на патент № PCT/GB2009/000978.

Два рандомизированных, контролируемых, слепых для экспертов, производящих оценку, многоцентровых исследования 2 фазы в параллельных группах со стратификацией по анти-Мюллерову гормону (AMH) были проведены на пациентах, проходящих IVF/ICSI, одно в Европе и одно в Японии, для установления зависимости доза-ответ для FE 999049 и количества забранных яйцеклеток. В обоих исследованиях рандомизацию

осуществляли на основе стратификации по уровню АМН при скрининге; низкий АМН (5,0-14,9 пмоль/л) или высокий АМН (15,0-44,9 пмоль/л). В европейском исследовании 2 фазы для установления зависимости доза-ответ исследовали пять доз FE 999049 в диапазоне от 5,2 мкг/сутки до 12,1 мкг/сутки, а также была включена контрольная группа одобренного продукта rFSH (GONAL-F, 150 ME/сутки). В японском исследовании фазы 2 для установления зависимости доза-ответ исследовали три дозы FE 999049 (6 мкг/сутки, 9 мкг/сутки и 12 мкг/сутки) и также включали одобренный продукт rFSH (FOLLISTIM, 150 ME/сутки) в качестве стандарта терапии. В настоящее время фоллитропин бета (FOLLISTIM) является единственным лекарственным средством, одобренным в Японии для контролируемой овариальной стимуляции в циклах IVF/ICSI.

В европейских и японских исследованиях 2 фазы суточная доза была фиксированной на протяжении всего периода стимуляции. В обоих исследованиях наблюдалась статистически значимая зависимость доза-ответ для FE 999049 в отношении количества забранных яйцеклеток для всей популяции и для каждой группы рандомизации АМН. Приемлемый процент беременностей был достигнут при всех дозах FE 999049. Кроме того, наблюдаемый профиль доза-ответ FE 999049 был аналогичным в европейском и японском исследованиях.

Эта работа позволила разработать индивидуализированные протоколы COS для дозирования продукта REKOVELLE® (фоллитропин дельта, FE999049).

Авторы настоящего изобретения обнаружили, что для возможности отобрать для переноса две яйцеклетки высокого качества обычно необходимо забрать около девяти яйцеклеток.

Авторы настоящего изобретения обнаружили, что для субъектов, имеющих низкий АМН (АМН менее 15 пмоль/л), для достижения этого требуется достаточно высокая доза фоллитропина дельта (например, 12 мкг). При этой дозе 8–14 яйцеклеток будут забраны у 60% пациентов с низким АМН. Это является неожиданным и значительным улучшением по сравнению с лечением субъектов с низким АМН, получавших 150 IU Gonadotropin, где от 8 до 14 яйцеклеток было забрано только у 33% субъектов. Авторы обнаружили, что нет необходимости корректировать эту дозу в соответствии с массой тела пациента.

Тем не менее, 60% населения (и 80% женщин в возрасте до 30 лет, получавших лечение от бесплодия) имеют высокий уровень АМН (то есть АМН 15 пмоль/л или более). Для этих субъектов обычно довольно просто получить в среднем от 9 до 11 яйцеклеток; проблема с протоколами стимуляции заключается в риске OHSS. Авторы настоящего изобретения обнаружили, что у пациентов, получавших низкие дозы фоллитропина

дельта, существует взаимосвязь между забранными яйцеклетками и массой тела субъекта. Это означает, что может существовать риск, связанный с лечением FSH в фиксированной дозе (что обычно в данной области). Авторы настоящего изобретения установили взаимосвязь между дозой FSH и уровнем АМН и массой субъекта, что обеспечивает улучшенный профиль безопасности (сниженный риск OHSS) с приемлемым или улучшенным забором яйцеклеток по сравнению с известными протоколами лечения.

Дозировка REKOVELLE индивидуальна для каждого пациента и направлена на получение ответа яичника, ассоциированного с благоприятным профилем безопасности/эффективности, то есть нацелена на получение достаточного количества забранных яйцеклеток и сокращение вмешательств для предотвращения синдрома гиперстимуляции яичников (OHSS). REKOVELLE дозируют в микрограммах.

Для первого цикла лечения индивидуальная суточная доза будет определяться на основе концентрации антимюллерового гормона (АМН) в сыворотке женщины и ее массы тела. Доза должна основываться на недавнем определении АМН (то есть в течение последних 12 месяцев), измеренном с помощью следующего диагностического теста от Roche: ELECSYS АМН Plus immunoassay. Индивидуальная суточная доза должна поддерживаться в течение всего периода стимуляции.

Для женщин с АМН менее 15 пмоль/л суточная доза REKOVELLE составляет 12 микрограммов, независимо от массы тела.

Для женщин с АМН 15 пмоль/л или более суточная доза REKOVELLE уменьшается с 0,19 до 0,10 мкг/кг при увеличении концентрации АМН (Таблица 1, ниже).

Доза должна быть округлена до ближайших 0,33 микрограмма, чтобы соответствовать шкале дозирования на шприце-ручке. Максимальная суточная доза для первого цикла лечения составляет 12 мкг. Для расчета дозы REKOVELLE массу тела следует измерять без обуви и верхней одежды непосредственно перед началом стимуляции.

Таблица А. Схема дозирования

АМН (пмоль/л)	менее 15	15-16	17	18	19-20	21-22	23-24	25-27	28-32	33-39	40 или более
Фиксированная суточная доза REKOVELLE	12,0 мкг	0,19 мкг/кг	0,18 мкг/кг	0,17 мкг/кг	0,16 мкг/кг	0,15 мкг/кг	0,14 мкг/кг	0,13 мкг/кг	0,12 мкг/кг	0,11 мкг/кг	0,10 мкг/кг

мкг: микрограммы

Концентрацию АМН выражают в пмоль/л и округляют до ближайшего целого числа. Если концентрация АМН выражена в нг/мл, концентрацию следует перевести в пмоль/л, умножив ее на 7,14 (нг/мл $\times$ 7,14 = пмоль/л) перед использованием.

Лечение REKOVELLE следует начинать на 2 или 3 сутки после начала менструального кровотечения и продолжать до тех пор, пока не будет достигнуто достаточное развитие фолликулов (3 или более фолликулов 17 мм или более), что в среднем достигается к девятым суткам лечения (от 5 до 20 суток). Для индуцирования окончательного созревания фолликулов вводят однократную инъекцию 250 мкг рекомбинантного хорионического гонадотропина человека (hCG) или 5000 IU hCG. У пациентов с чрезмерным развитием фолликулов (25 или более фолликулов 12 мм или более) лечение REKOVELLE следует прекратить и не следует проводить запуск конечного созревания фолликулов с помощью hCG.

Для последующих циклов лечения суточную дозу REKOVELLE следует поддерживать или модифицировать в зависимости от ответа яичников пациента в предыдущем цикле. Если у пациента был адекватный ответ яичников в предыдущем цикле без развития OHSS, следует использовать ту же суточную дозу. В случае пониженного ответа яичников в предыдущем цикле суточную дозу в последующем цикле следует увеличить на 25% или 50% в зависимости от степени наблюдаемого ответа. В случае повышенного ответа яичников в предыдущем цикле суточная доза в последующем цикле должна быть уменьшена на 20% или 33% в зависимости от степени наблюдаемого ответа. У пациентов, у которых развился OHSS или у которых был риск OHSS в предыдущем цикле, суточная доза для последующего цикла на 33% ниже, чем доза в цикле, где наблюдался OHSS или риск OHSS. Максимальная суточная доза составляет 24 мкг.

Эффективность и безопасность индивидуализированной схемы дозирования FE 999049, основанной на сывороточном АМН и массе тела женщины, была подтверждена в большом исследовании 3 фазы ESTHER-1 (доказательное исследование стимуляции человеческим rFSH в Европе и остальном мире), проведенном в 11 странах, включая Европу, Северную Америку и Латинскую Америку. Исследование ESTHER-1 было проведено на 1326 пациентах, проходящих IVF/ICSI, которые были рандомизированы 1:1 для контролируемой овариальной стимуляции с помощью одного из следующих лечений: 1) FE 999049 по индивидуальной схеме дозирования в суточной дозе, фиксированной на протяжении стимулирования, или 2) одобренный продукт rFSH (фоллитропин альфа, GONAL-F), полученный из клеток CHO, в стандартной начальной дозе 150 IU/сутки с последующей корректировкой дозы на основе ответа яичников субъекта во время

стимуляции. Было показано, что FE 999049 по индивидуальной схеме дозирования не уступает фоллитропину альфа в отношении показателей продолжающейся беременности (30,7% против 31,6%) и продолжающей имплантации (35,2% против 35,8%). Для всей популяции не было статистически значимых различий между группами лечения с точки зрения количества забранных яйцеклеток, средние значения составляли 10,0 для FE 999049 и 10,4 для фоллитропина альфа. Тем не менее, индивидуальная схема дозирования FE 999049 по сравнению с фоллитропином альфа привела к статистически значимому увеличению числа забранных яйцеклеток у пациентов с АМН менее 15 пмоль/л (популяция с риском пониженного ответа) со средним значением 8,0 против 7,0 и статистически значимо меньшим количеством яйцеклеток у пациентов с АМН 15 пмоль/л или более (популяция с риском повышенного ответа) в среднем 11,6 против 13,3. Непосредственная клиническая значимость этого сдвига в ответе яичников при терапии FE 999049 была выявлена как статистически значимо меньшее количество пациентов с экстремальным ответом яичников по сравнению с фоллитропином альфа, то есть менее 4 яйцеклеток среди пациентов с АМН менее 15 пмоль/л (12% против 18%) и 15 или более или 20 или более яйцеклеток среди пациентов с АМН 15 пмоль/л или более (28% против 35% и 10% против 16%). Процент пациентов с должным ответом яичников, определенным для FE 999049 как 8-14 яйцеклеток, достигался у достоверно большего числа пациентов, получавших FE 999049, по сравнению с пациентами, получавшими фоллитропин альфа, то есть у 43% против 38%, несмотря на корректировки дозы во время стимуляции у 37% пациентов в группе фоллитропина альфа в отличие от индивидуальной схемы дозирования с фиксированной дозой FE 999049. Общая доза гонадотропина была статистически значимо ниже в группе FE 999049 по сравнению с группой, получавшей rFSH, полученный из клеток CHO, со средними значениями 90 мкг и 104 мкг, соответственно.

Наиболее серьезным риском, связанным с лечением гонадотропином, является синдром гиперстимуляции яичников (OHSS). В целом, в исследованиях 3 фазы ESTHER-1 OHSS и/или превентивные вмешательства на ранних стадиях OHSS имели место в 4,4% циклах с применением FE 999049 и 6,5% циклах с применением фоллитропина альфа. Умеренный/тяжелый OHSS и/или превентивные вмешательства по поводу раннего OHSS имели место в 3,3% и 5,6% циклах лечения с применением FE 999049 и фоллитропина альфа, соответственно.

Предыдущие исследования показали, что уровни OHSS у японских пациентов составляют от 5% до 28,3%. В исследовании FE 999049 фазы 2 в Японии доля субъектов с

ранним умеренным/тяжелым OHSS составила 19,5% в группе FOLLISTIM. Несмотря на различия в показателях встречаемости OHSS, высокий уровень встречаемости OHSS у японских пациентов, проходящих IVF/ICSI, свидетельствует о том, что в Японии существует явная необходимость выбора варианта лечения с более безопасным профилем в отношении OHSS. По результатам более чем 1300 циклов в исследовании 3 фазы ESTHER-1, индивидуализированная схема дозирования FE 999049 сопровождалась статистически значимым снижением доли субъектов с ранним OHSS и/или превентивными вмешательствами по поводу раннего OHSS по сравнению со стандартной схемой применения продукта rFSH, полученного из клеток CHO, при этом они встречались с частотой 4,7% в группе, получавшей FE 999049, и 6,2% в группе, получавшей фоллитропин альфа.

Во многих азиатских популяциях (например, в Японии, Китае, Южной Корее и Индии) многие женщины имеют низкую массу тела по сравнению с женщинами в США и Западной Европе. Следовательно, существует риск того, что введение фиксированной дозы, подходящей для населения в Европе, азиатским/японским пациентам может привести к тому, что эти пациенты с меньшей массой тела получают дозу FSH, которая является чрезмерно высокой в расчете на кг массы тела. Это, в свою очередь, может привести к риску чрезмерного ответа и OHSS у этих пациентов. Традиционные протоколы FSH в «фиксированной дозе» могут быть причиной некоторых высоких показателей OHSS, зарегистрированных в Японии.

Протокол дозирования, приведенный в Таблице А, некоторым образом снижает этот риск, поскольку пациенты получают дозу в расчете на массу тела. Однако очень низкие дозы гонадотропинов потенциально ассоциированы с недостаточным рекрутированием фолликулов и слабым ответом яичников. Следовательно, существует риск того, что дозирование в соответствии с Таблицей А может привести к тому, что пациенты с очень низкой массой тела и высоким АМН получают дозу FSH, которая может быть неоптимальной с точки зрения эффективности. Следовательно, существует необходимость в эффективной дозировке для пациентов с низкой массой тела (масса тела менее 60 кг) с высоким АМН для одновременного снижения риска чрезмерной стимуляции и OHSS у этих пациентов (которые могут быть более предрасположены к этому риску, поскольку у них высокий АМН и низкая масса тела).

Авторы настоящего изобретения идентифицировали пациентов в японском исследовании 2 фазы, упомянутом выше (см. также Пример 2 ниже), которые (на основании АМН и массы тела) получили бы менее 6 мкг FE 999049 в соответствии с

индивидуализированной схемой дозирования FE 999049, приведенной в таблице А, но на самом деле получили либо 6 мкг FE 999049, либо 150 IU FOLLISTIM в соответствии с рандомизацией. Это было только очень ограниченное число пациентов (5 пациентов в группе, получавшей 6 мкг FE 999049, и 3 пациента в группе, получавшей 150 IU FOLLISTIM). Удивительно, но ответ яичников с созревaniem 15 яйцеклеток и более не наблюдали ни у одной из 5 пациентов в группе, получавшей 6 мкг FE 999049, но у 2 из 3 пациентов (66,7%) в группе, получавшей 150 IU FOLLISTIM. Также удивительно, что избыточное развитие фолликулов, требующее запуска с агонистом GnRH, не наблюдали ни у одной из 5 пациентов в группе, получавшей 6 мкг FE 999049, но у 1 из 3 пациентов (33,3%) в группе, получавшей 150 IU FOLLISTIM. Ранний OHSS был отмечен у 1 из 5 пациентов (20,0%) в группе, получавшей 6 мкг FE 999049, и у 1 из 3 пациентов (33,3%) в группе, получавшей 150 IU FOLLISTIM. Эти данные подтверждают безопасность и эффективность применения 6 мкг FE 999049 у японских пациентов, проходящих IVF/ICSI, включая пациентов с массой тела менее 60 кг и АМН 15 пмоль/л или более.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что с учетом более низкой массы тела в японской популяции можно указать минимальную дозу 6 мкг, чтобы избежать недостаточной дозировки у японских пациентов с низкой массой тела и, таким образом, сохранить эффективность у этих пациентов, избегая побочных эффектов, таких как OHSS. Понятно, что этот технический эффект применим к любой азиатской популяции или к любой популяции, которая включает пациентов с низкой массой тела и высоким АМН, независимо от этнического происхождения пациента.

Согласно настоящему изобретению, в первом аспекте предложена композиция (например, фармацевтическая композиция) для применения в лечении бесплодия у пациента (например, пациента женского пола), имеющего АМН 15 пмоль/л или более (например АМН 16 пмоль/л или более, например АМН 19 пмоль/л или более, например АМН 26 пмоль/л или более, например АМН 28 пмоль/л или более, например АМН 40 пмоль/л или более) и массу тела менее 60 кг, причем композиция содержит суточную дозу, составляющую, или суточную дозу, эквивалентную 6-8 мкг рекомбинантного FSH. Предпочтительно, композиция содержит суточную дозу от 6 до 8 мкг рекомбинантного FSH. Более предпочтительно, композиция содержит суточную дозу, составляющую 6 мкг рекомбинантного FSH.

Лечение бесплодия может включать в себя стадию (или стадии) определения уровня АМН в сыворотке и массы тела пациента. Лечение бесплодия может включать стадию введения дозы пациенту, имеющему определенный уровень сывороточного АМН

и определенную массу тела. Например, лечение бесплодия может включать в себя стадию (или стадии) определения уровня АМН в сыворотке и массы тела пациента и стадию введения дозы пациенту, имеющему АМН 15 пмоль/л или более (например АМН 16 пмоль/л или более, например АМН 19 пмоль/л или более, например АМН 26 пмоль/л или более, например АМН 28 пмоль/л или более, например АМН 40 пмоль/л или более) и массу тела менее 60 кг [например, массу тела менее 55 кг, например менее 52 кг, например менее 50 кг, например менее 45 кг].

Стадия определения уровня АМН в сыворотке пациента может осуществляться вплоть до двенадцати месяцев перед первым введением дозы пациенту. Предпочтительно, уровень АМН в сыворотке пациента определяют (измеряют) с помощью иммуноанализа ELECSYS АМН Plus (предоставляемого Roche, Швейцария, см. www.roche.com). Стадия определения массы тела пациента может осуществляться непосредственно перед (например, за 0 - 2 суток), первым введением дозы пациенту. На стадии определения массы тела пациента можно использовать весы, как это хорошо известно.

Композицию (например, фармацевтическую композицию) можно применять для лечения бесплодия у пациента с массой тела менее 59 кг, например менее 56 кг, например менее 55 кг, например менее 52 кг, например менее 50 кг, например менее 45 кг, например менее 42 кг, например менее 31,5 кг. Композицию (например, фармацевтическую композицию) можно применять для лечения бесплодия у пациента с массой тела от 40 до 59,9 кг, например для лечения бесплодия у пациента с массой тела от 45 до 55 кг. Композицию можно применять для лечения бесплодия у пациента с АМН 16 пмоль/л или более, например АМН 19 пмоль/л или более, например АМН 26 пмоль/л или более, например АМН 28 пмоль/л или более, например АМН 30 пмоль/л или более, например АМН 40 пмоль/л или более.

Предпочтительно, композиция (например, фармацевтическая композиция) предназначена для применения в лечении бесплодия у пациента, имеющей массу тела менее 52 кг (например менее 50 кг, например менее 45 кг) и имеющей АМН 26 пмоль/л или более (например АМН 28 пмоль/л или более, например АМН 30 пмоль/л или более, например АМН 40 пмоль/л или более). В этом примере лечение бесплодия может включать в себя стадию определения уровня АМН в сыворотке и массы тела пациента и стадию введения дозы пациенту с АМН 26 пмоль/л или более и массой тела менее 52 кг.

В соответствии с настоящим изобретением в дополнительном аспекте предложена композиция (например, фармацевтическая композиция) для применения в лечении бесплодия у пациента (например, пациента женского пола), идентифицированного (до

начала лечения) как имеющий АМН 15 пмоль/л или более (например АМН 16 пмоль/л или более, например АМН 19 пмоль/л или более, например АМН 26 пмоль/л или более, например АМН 28 пмоль/л или более, например АМН 40 пмоль/л или более) и идентифицированного (до начала лечения) как имеющий массу тела менее 60 кг, при этом композиция содержит суточную дозу, составляющую, или суточную дозу, эквивалентную 6-8 мкг рекомбинантного FSH. Предпочтительно, композиция содержит суточную дозу от 6 до 8 мкг рекомбинантного FSH. Более предпочтительно, композиция содержит суточную дозу, составляющую 6 мкг рекомбинантного FSH.

Лечение бесплодия может включать в себя стадию идентификации пациента (до начала лечения) на основании уровня АМН в сыворотке и массы тела пациента. Лечение бесплодия может включать в себя стадию введения дозы пациенту, у которого установлено наличие определенного уровня АМН в сыворотке и определенной массы тела. Например, лечение бесплодия может включать в себя стадию идентификации пациента (до начала лечения) на основе уровня АМН в сыворотке и массы тела пациента, и стадию введения дозы пациенту, идентифицированному (до начала лечения) как имеющий АМН 15 пмоль/л или более (например АМН 16 пмоль/л или более, например АМН 19 пмоль/л или более, например АМН 26 пмоль/л или более, например АМН 28 пмоль/л или более, например АМН 40 пмоль/л или более) и идентифицированному (до начала лечения) как имеющий массу тела менее 60 кг [например, масса тела менее 55 кг, например менее 52 кг, например менее 50 кг, например менее 45 кг].

Стадия идентификации пациента (до начала лечения) на основании уровня АМН в сыворотке и массы тела пациента может иметь место непосредственно перед (например, от 0 до 2 суток до) первым введением дозы пациенту. Стадия идентификации пациента может быть основана на уровне АМН в сыворотке, определенном ранее (например, уровне АМН в сыворотке, определенном за вплоть до двенадцати месяцев до первого введения дозы пациенту). Предпочтительно, уровень АМН в сыворотке пациента определяют (измеряют) с помощью иммуноанализа ELECSYS АМН Plus (предоставляемого Roche, Швейцария, см. www.roche.com). Стадия идентификации пациента может быть основана на массе тела пациента, определенной непосредственно перед (например, за 0 - 2 суток) первым введением дозы пациенту. На стадии определения массы тела пациента можно использовать весы, как это хорошо известно.

Композицию (например, фармацевтическую композицию) можно применять для лечения бесплодия у пациента, идентифицированного (до начала лечения) как имеющий массу тела менее 59 кг, например менее 56 кг, например менее 55 кг, например менее 52

кг, например менее 50 кг, например менее 45 кг, например менее 42 кг, например менее 31,5 кг. Композицию (например, фармацевтическую композицию) можно применять для лечения бесплодия у пациента, идентифицированного (до начала лечения) как имеющий массу тела от 40 до 59,9 кг, например, для лечения бесплодия у пациента с массой тела от 45 до 55 кг. Композицию можно применять для лечения бесплодия у пациента, идентифицированного (до начала лечения) как имеющий АМН 16 пмоль/л или более, например АМН 19 пмоль/л или более, например АМН 26 пмоль/л или более, например АМН 28 пмоль/л или более, например АМН 30 пмоль/л или более, например АМН 40 пмоль/л или более.

Предпочтительно, композиция (например, фармацевтическая композиция) предназначена для применения в лечении бесплодия у пациента, идентифицированного (до начала лечения) как имеющий массу тела менее 52 кг (например менее 50 кг, например менее 45 кг) и идентифицированного (до начала лечения) как имеющий АМН 26 пмоль/л или более (например АМН 28 пмоль/л или более, например АМН 30 пмоль/л или более, например АМН 40 пмоль/л или более). В этом примере лечение бесплодия может включать в себя стадию идентификации пациента (до начала лечения) на основе уровня АМН в сыворотке и массы тела пациента, и стадию введения дозы пациенту, идентифицированному (до начала лечения) как имеющий АМН 26 пмоль/л или более и идентифицированному (до начала лечения) как имеющий массу тела менее 52 кг.

Предпочтительно, FSH представляет собой рекомбинантный FSH (rFSH). Предпочтительно, rFSH (например, рекомбинантный FSH, полученный из линии клеток человека) включает α 2,3- и α 2,6-сиалирование. FSH (rFSH) для применения в соответствии с изобретением может иметь α 2,3-сиалирование, составляющее от 1% до 99% от общего сиалирования. FSH (rFSH) согласно изобретению может иметь α 2,6-сиалирование, составляющее от 1% до 99% от общего сиалирования. Предпочтительно, α 2,3-сиалирование составляет от 80 до 95%, например от 80 до 90%, например от 82 до 89%, например от 85 до 89% от общего сиалирования. Предпочтительно, α 2,6-сиалирование составляет от 5 до 20%, например от 10 до 20%, например от 11 до 18%, например от 11 до 15% от общего сиалирования. Под сиалированием подразумевается количество сиаловых остатков, присутствующих в углеводных структурах FSH. α 2,3-сиалирование означает сиалирование в положении 2,3 (как это хорошо известно в данной области техники), а α 2,6-сиалирование в положении 2,6 (также хорошо известно в данной области техники). Таким образом, « α 2,3-сиалирование, составляющее ...% от общего сиалирования» относится к % от общего количества остатков сиаловой кислоты,

присутствующих в сиаэированном FSH в положении 2,3. Термин « α 2,6-сиаэирование, составляющее ...% от общего сиаэирования» относится к % от общего количества остатков сиаловой кислоты, присутствующих в сиаэированном FSH в положении 2,6. rFSH может присутствовать в виде одной изоформы или в виде смеси изоформ.

Композицию можно применять для лечения бесплодия у азиатского пациента (например, японского, китайского, корейского, индийского пациента, например пациента этнической группы хань, ямато или корейской этнической группы).

В соответствии с настоящим изобретением в дополнительном аспекте предложено лекарственное средство для лечения бесплодия у азиатского пациента (например, японского, китайского, корейского, индийского пациента), содержащее фолликулостимулирующий гормон (FSH), предпочтительно рекомбинантный FSH; где лекарственное средство вводят азиатскому пациенту (например, японскому, китайскому, корейскому, индийскому пациенту), идентифицированному (до начала лечения) как имеющий уровень АМН в сыворотке крови 15 пмоль/л или более (например АМН 16 пмоль/л или более, например АМН 19 пмоль/л или более, например АМН 28 пмоль/л или более) и идентифицированному (до начала лечения) как имеющий массу тела менее 60 кг; причем лекарственное средство вводят в суточной дозе, составляющей, или суточной дозе, эквивалентной 6-8 мкг рекомбинантного FSH. Предпочтительно, суточная доза составляет от 6 до 8 мкг рекомбинантного FSH. Более предпочтительно, суточная доза составляет 6 мкг рекомбинантного FSH.

Лечение бесплодия может включать в себя стадию идентификации пациента (до начала лечения) на основании уровня АМН в сыворотке и массы тела пациента. Лечение бесплодия может включать в себя стадию введения дозы пациенту, у которого установлен определенный уровень АМН в сыворотке и определенная масса тела. Например, лечение бесплодия может включать в себя стадию идентификации пациента (до начала лечения) на основе уровня АМН в сыворотке и массы тела пациента, и стадию введения дозы пациенту, идентифицированному (до начала лечения) как имеющий АМН 15 пмоль/л или более (например АМН 16 пмоль/л или более, например АМН 19 пмоль/л или более, например АМН 26 пмоль/л или более, например АМН 28 пмоль/л или более, например АМН 40 пмоль/л или более) и идентифицированному (до начала лечения) как имеющий массу тела менее 60 кг [например, масса тела составляет менее 55 кг, например менее 52 кг, например менее 50 кг, например менее 45 кг].

Стадия идентификации пациента (до начала лечения) на основании уровня АМН в сыворотке и массы тела пациента может осуществляться непосредственно перед

(например, за 0 - 2 суток) первым введением дозы пациенту. Стадия идентификации пациента может быть основана на уровне АМН в сыворотке, определенном ранее (например, уровне АМН в сыворотке, определенном за двенадцать месяцев до первого введения дозы пациенту). Предпочтительно, уровень АМН в сыворотке пациента определяют (измеряют) с помощью иммуноанализа ELECSYS АМН Plus (предоставляемого Roche, Швейцария, см. www.roche.com). Стадия идентификации пациента может быть основана на массе тела пациента, которую определяют непосредственно перед (например, за 0 - 2 суток) первым введением дозы пациенту. На стадии определения массы тела пациента можно использовать весы, как это хорошо известно.

В данном документе «первые сутки лечения», также называемые «первые сутки стимуляции», относятся к первым суткам, когда пациенту вводят дозу FSH (например, рекомбинантного). Первые сутки лечения (стимуляции) могут приходиться на 1, 2 или 3 сутки, предпочтительно, на 2 или 3 сутки менструального цикла пациента. Другими словами, первые сутки лечения (стимуляции) могут быть через одни, двое или трое суток, предпочтительно через двое или трое суток, после начала у пациента менструального кровотечения, как хорошо известно в данной области.

Дозирование FSH начинается в первые сутки лечения и может продолжаться в течение от двух до двадцати суток, например продолжаться в течение 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 суток. Дозирование FSH начинается в первые сутки лечения и может продолжаться в течение от семи до тринадцати суток, например от девяти до тринадцати суток, например от 10 до 13 суток, например от 10 до 11 суток. FSH можно вводить в дозе, эквивалентной суточным дозам, указанным выше. Например, композиция может быть предназначена для введения в дозе 18 мкг FSH каждые трое суток (например, для введения в сутки 1, 4, 7 и так далее).

Композицию (например, фармацевтическую композицию) или лекарственное средство можно вводить после предварительного лечения пациента (другой) фармацевтической композицией, которая подавляет выработку эндогенного гонадотропина перед первыми сутками лечения FSH (например, после того, как субъект получил предварительное лечение стероидом, агонистом GnRH, антагонистом GnRH и так далее). В данном документе термин «предварительное лечение» или «получение предварительного лечения» относится к введению фармацевтической композиции, которая подавляет выработку эндогенного гонадотропина до первых суток лечения с помощью FSH и hCG. Это хорошо известно в области техники. Таким образом,

композиция (например, фармацевтическая композиция) или лекарственное средство может быть предназначена для введения через 12 - 16, например, через 13 - 15, например, через 14 суток после введения (например, после начала введения, например после начала ежедневного введения) агониста GnRH (например, Synarel, Lupron, Decapeptyl). Продукт может быть предназначен для введения с агонистом GnRH.

В других примерах композиция (например, фармацевтическая композиция) или лекарственное средство может предназначаться для введения перед введением антагониста GnRH (например, ганиреликса, цетрореликса), например, для введения за пять или шесть суток перед введением антагониста GnRH. Продукт может быть предназначен для введения с антагонистом GnRH.

Предпочтительно, композиция (например, фармацевтическая композиция) или лекарственное средство предназначены для введения перед введением высокой (овуляторной) дозы hCG (например, от 4000 до 11 000 IU hCG, например 5000 IU hCG, 10000 IU hCG и так далее; или от 150 до 350 мкг рекомбинантного hCG, например 250 мкг рекомбинантного hCG) для индуцирования окончательного созревания фолликулов.

Указанные выше дозы можно применять для лечения бесплодия в первом протоколе стимуляции пациента (субъекта). Понятно, что для дальнейших циклов стимуляции дозы можно корректировать в соответствии с фактическим ответом яичников в первом цикле.

Авторы настоящего изобретения разработали «индивидуализированные» протоколы COS, в которых конкретные дозы рекомбинантного FSH, обладающие конкретными характеристиками, используются для лечения пациентов на основании их определенных уровней АМН, тем самым увеличивая вероятность адекватного ответа на стимуляцию (например, у пациентов с возможным слабым ответом), и/или сниженного риска ОНСС (например, у пациентов, отнесенных к группе с высоким или избыточным ответом).

Уровень АМН в сыворотке может быть определен (например, измерен) любым способом, известным в данной области. Уровень АМН в сыворотке может быть измерен с использованием набора для иммуноферментного анализа АМН Gen-II, (Beckman Coulter, Inc., Webster, Texas). Посредством этого анализа можно выявить концентрации АМН, превышающие 0,57 пмоль/л с нижним пределом количественного определения 1,1 пмоль/л. Уровень АМН в сыворотке может быть измерен с использованием автоматизированного анализа АМН ACCESS (Beckman Coulter, Inc., Webster, Texas). Предпочтительно, уровень АМН в сыворотке измеряют с использованием анализа

Elecsys® АМН от Roche Diagnostics. Можно использовать и другие анализы.

В данном документе значения АМН в сыворотке, как правило, приведены в пмоль/л. Они могут быть переведены в нг/мл с использованием формулы $1 \text{ нг/мл АМН} = 7,1 \text{ пмоль/л АМН}$.

В данном документе термины «пациент» и «субъект» используются взаимозаменяемо.

В данном документе термин «лечение бесплодия» включает лечение бесплодия с помощью контролируемой овариальной стимуляции (COS) или способов, которые включают стадию или этап контролируемой овариальной стимуляции (COS), например внутриматочное оплодотворение (IUI), экстракорпоральное оплодотворение (IVF) или внутрицитоплазматическая инъекция сперматозоидов (ICSI). Термин «лечение бесплодия» охватывает лечение бесплодия путем индуцирования овуляции (OI) или способами, которые включают стадию или этап индуцирования овуляции (OI). Термин «лечение бесплодия» охватывает лечение бесплодия у субъекта, имеющего трубное или необъяснимое бесплодие, включая лечение бесплодия у субъекта, имеющего эндометриоз, например эндометриоз I или II стадии, и/или у субъекта, страдающего ановуляторным бесплодием, например ановуляторным бесплодием типа II по классификации WHO (Всемирная организация здравоохранения) и/или у субъекта, имеющего партнера с мужским бесплодием. Продукт (или композиция) может быть предназначена для лечения (использования в лечении) бесплодия (и/или для контролируемой овариальной стимуляции) у субъекта, страдающего эндометриозом, например у субъекта, имеющего эндометриоз I или II стадии, согласно системе классификации различных стадий эндометриоза, предложенной Американским обществом репродуктивной медицины (ASRM) (наиболее тяжелая стадия IV; наименее тяжелая стадия I) [American Society for Reproductive Medicine. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. Fertil Steril 1997; 67,817 821.].

Композиция или лекарственное средство могут быть предназначены для лечения (использования в лечении) бесплодия (и/или для контролируемой овариальной стимуляции) у субъекта, имеющего нормальный уровень FSH в сыворотке от 1 до 16 IU/л, например, от 1 до 12 IU/л, в ранней фолликулярной фазе.

Композиция или лекарственное средство могут быть предназначены для лечения (использования в лечении) бесплодия (и/или для контролируемой овариальной стимуляции) у субъекта в возрасте от 18 до 42 лет, например от 25 до 37 лет. Продукт может быть предназначен для лечения (использования в лечении) бесплодия (и/или для

контролируемой овариальной стимуляции) у субъекта, имеющего BMI более 1 и BMI менее 35 кг/м², например субъекта, имеющего BMI более 18 и BMI менее 25 кг/м², например, имеющего BMI более 20 и BMI менее 25 кг/м².

Рекомбинантный FSH может быть продуцирован или экспрессирован в линии клеток человека, например линии клеток Per.C6, линии клеток HEK293, линии клеток HT1080 и так далее. Это может упростить (и сделать более эффективным) способ получения, поскольку, например, манипуляции и контролирование, например, среды для роста клеток для сохранения сиалирования могут быть менее критичны, чем при известных процессах. Способ также может быть более эффективным, потому что продуцируется мало основного rFSH по сравнению с продуцированием известных продуктов rFSH; продуцируется более кислый rFSH, и разделение/удаление основного FSH менее проблематично. rFSH может быть продуцирован или экспрессирован в клеточной линии PER.C6®, клеточной линии, имеющей происхождение от PER.C6® или в модифицированной клеточной линии PER.C6®. rFSH, который продуцируется или экспрессируется в линии клеток человека (например, линии клеток PER.C6®, линии клеток HEK293, линии клеток HT1080 и так далее) будет включать некоторые α2,6-связанные сиаловые кислоты (α2,6-сиалирование), обеспечиваемые эндогенной сиалилтрансферазной активностью [линии клеток], и будет включать некоторое количество α2,3-связанных сиаловых кислот (α2,3-сиалирование), обеспечиваемое эндогенной сиалилтрансферазной активностью. Клеточная линия может быть модифицирована с использованием α2,3-сиалилтрансферазы. Клеточная линия может быть модифицирована с использованием α2,6-сиалилтрансферазы. Альтернативно или дополнительно, rFSH может включать α2,6-связанные сиаловые кислоты (α2,6-сиалирование), обеспечиваемые эндогенной сиалилтрансферазной активностью [линии клеток]. В данном документе термин «рекомбинантный FSH человеческого происхождения» означает рекомбинантный FSH, продуцируемый или экспрессируемый линией клеток человека (например, рекомбинантный FSH, полученный путем конструирования линии клеток человека).

rFSH может быть получен с использованием α2,3- и/или α2,6-сиалилтрансферазы. В одном примере rFSH получают с использованием α2,3-сиалилтрансферазы. Рекомбинантный FSH может включать α2,6-связанные сиаловые кислоты (α2,6-сиалирование), обеспечиваемые эндогенной сиалилтрансферазной активностью.

Композиция может представлять собой фармацевтическую композицию. Фармацевтическая композиция предназначена для лечения бесплодия. Лечение бесплодия

может включать вспомогательные репродуктивные технологии (ART), индукцию овуляции или внутриматочное оплодотворение (IUI). Фармацевтическую композицию можно применять, например, при медицинских показаниях, где используются известные препараты FSH.

Композиция или лекарственное средство могут быть приготовлены в форме хорошо известных композиций для любого пути введения лекарственного средства, например перорального, ректального, парентерального, трансдермального (например, при помощи пластыря), внутривенного, внутримышечного, подкожного, интратерального, интравагинального, внутрибрюшинного, местного (порошки, мази или капли) или в виде буккального или назального спрея. Типичная композиция содержит фармацевтически приемлемый носитель, такой как водный раствор, нетоксичные эксципиенты, включая соли и консерванты, буферы и тому подобное, как описано в пятнадцатом издании Remington's Pharmaceutical Sciences (Matt Publishing Company, 1975), на страницах с 1405 по 1412 и 1461 - 87, и национальном формуляре XIV четырнадцатого издания (Американская фармацевтическая ассоциация, 1975), среди прочих.

Примеры подходящих водных и неводных фармацевтических носителей, разбавителей, растворителей или несущих сред включают воду, этанол, полиолы (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и тому подобное), карбоксиметилцеллюлозу и их подходящие смеси, растительные масла (такие как оливковое масло) и инъеклируемые органические сложные эфиры, такие как этилолеат. Композиции или лекарственные средства по настоящему изобретению также могут содержать добавки, такие как консерванты, смачивающие агенты, эмульгирующие агенты, поверхностно-активные вещества и диспергирующие агенты, не ограничиваясь ими. Антибактериальные и противогрибковые агенты могут быть включены для предотвращения роста микробов и включают, например, *m*-крезол, бензиловый спирт, парабен, хлорбутанол, фенол, сорбиновую кислоту и тому подобное. Если включен консервант, предпочтительными являются бензиловый спирт, фенол и/или *m*-крезол; однако консервант никоим образом не ограничен этими примерами. Кроме того, может быть желательно включить изотонические агенты, такие как сахара, хлорид натрия и тому подобные.

Композиция или лекарственное средство может дополнительно содержать соль, содержащую фармацевтически приемлемый катион щелочного металла, выбранную из группы, состоящей из солей Na^+ или K^+ , или их комбинации. Предпочтительно, соль представляет собой соль Na^+ , например, NaCl или Na_2SO_4 .

Предпочтительно, композиция или лекарственное средство содержит рекомбинантный FSH и одно или более чем одно из: полисорбата 20, L-метионина, фенола, динатрийсульфата и натрийфосфатного буфера.

В некоторых случаях для достижения пролонгированного действия желательно замедлить всасывание FSH (и других активных ингредиентов, если они присутствуют) при подкожной или внутримышечной инъекции. Это может быть достигнуто путем использования жидкой суспензии кристаллического или аморфного материала с низкой растворимостью в воде. Скорость абсорбции FSH тогда зависит от скорости его растворения, которая, в свою очередь, может зависеть от размера кристаллов и кристаллической формы. Альтернативно, замедленная абсорбция парентерально вводимой комбинированной формы FSH достигается путем растворения или суспендирования комбинации FSH в масляной несущей среде. Инъецируемые депо-формы могут быть получены путем формирования микрокапсульных матриц с FSH (и другими агентами, если они присутствуют) в биоразлагаемых полимерах, таких как полилактид-полигликолид. В зависимости от соотношения FSH и полимера и природы конкретного используемого полимера скорость высвобождения FSH можно контролировать. Примеры других биоразлагаемых полимеров включают поливинилпирролидон, поли(ортоэфир), поли(ангидриды) и так далее. Инъекционные депо-препараты также получают путем захвата FSH в липосомы или микроэмульсии, которые совместимы с тканями организма.

Инъекционные составы могут быть стерилизованы, например, путем фильтрации через удерживающий бактерии фильтр или путем включения стерилизующих агентов в форме стерильных твердых композиций, которые могут быть растворены или диспергированы в стерильной воде или другой стерильной инъекционной среде непосредственно перед использованием. Инъецируемые препараты могут поставляться в любом подходящем контейнере, например флаконе, предварительно заполненном шприце, инъекционных картриджах и тому подобном.

Композиция или лекарственное средство могут быть приготовлены для однократного или многократного применения (многократная доза). Если композиция или лекарственное средство приготовлены для многократного применения, предпочтительно, чтобы был включен консервант. Если включен консервант, предпочтительными являются бензиловый спирт, фенол и/или м-крезол; однако консервант никоим образом не ограничен этими примерами. Композиция или лекарственное средство для однократного или многократного применения может дополнительно содержать соль, содержащую фармацевтически приемлемый катион щелочного металла, выбранную из группы,

состоящей из солей Na^+ или K^+ , или их комбинации. Предпочтительно, соль представляет собой Na^+ соль, например, NaCl или Na_2SO_4 .

Композиция или лекарственное средство могут быть включены в контейнер, такой как флакон, предварительно заполненный картридж (например, для однократного введения или многократного использования) или инъекционное устройство, такое как «ручка», например, для введения нескольких доз.

Композиция или лекарственное средство могут представлять собой композицию (например, инъекционную композицию), включающую FSH (возможно, с hCG, LH, активностью LH и так далее). Источником активности LH, если таковая присутствует, может быть LH или хорионический гонадотропин человека, hCG. Если имеется более одного активного ингредиента (то есть FSH и, например, hCG или LH) они могут подходить для введения по отдельности или совместно. Если введение отдельное, введение может быть последовательным. Композиция или лекарственное средство могут поставляться в любой подходящей упаковке. Например, композиция или лекарственное средство могут включать несколько контейнеров (например, предварительно заполненные шприцы или флаконы), содержащие либо FSH, либо hCG, либо комбинацию (или комбинацию) как FSH, так и hCG. hCG может быть рекомбинантным hCG или hCG мочи. Если композиция или лекарственное средство включает в себя несколько контейнеров (например, предварительно заполненные шприцы или флаконы), содержащих FSH, например рекомбинантный FSH, каждый контейнер может включать одинаковое количество FSH. Один или несколько контейнеров могут включать различное количество FSH. Шприцы или флаконы могут быть упакованы в блистерную упаковку или другие средства для поддержания стерильности. Любая композиция или лекарственное средство возможно могут содержать инструкции по применению составов FSH (и, например, hCG, если таковой присутствует). Значение pH и точная концентрация различных компонентов фармацевтической композиции оптимизируются в соответствии с обычной практикой в этой области. См. Goodman and Gilman's The Pharmacological basis for therapeutics, 7-е изд. В предпочтительном воплощении композиция или лекарственное средство по изобретению поставляются в виде композиций для парентерального введения. Общие способы получения парентеральных композиций известны в данной области и описаны в REMINGTON; The science and practice of pharmacy, см. выше, на страницах 780-820. Парентеральные композиции могут поставляться в виде жидкой композиции или в виде твердого вещества, которое будет смешано со стерильной инъекционной средой непосредственно перед введением. В особенно предпочтительном воплощении

парентеральные композиции поставляются в единичной дозированной форме для простоты введения и однородности дозировки.

В соответствии с настоящим изобретением в следующем аспекте предложен способ лечения бесплодия, включающий стадию введения суточной, составляющей, дозы или суточной дозы, эквивалентной 6-8 мкг рекомбинантного FSH, пациенту (например, пациенту женского пола) с АМН 15 пмоль/л или более (например АМН 16 пмоль/л или более, например АМН 19 пмоль/л или более, например АМН 26 пмоль/л или более, например АМН 28 пмоль/л или более, например АМН 40 пмоль/л или более) и массой тела менее 60 кг [например, массой тела менее 55 кг, например менее 52 кг, например менее 50 кг, например менее 45 кг, например менее 42 кг, например менее 31,5 кг]. Предпочтительно, суточная доза составляет от 6 до 8 мкг рекомбинантного FSH. Более предпочтительно, суточная доза составляет 6 мкг рекомбинантного FSH.

Способ может включать в себя стадию определения уровня АМН в сыворотке и массы тела пациента. Способ может включать стадию введения дозы пациенту, имеющему определенный уровень АМН в сыворотке и массу тела. Например, способ может включать в себя стадию определения уровня АМН в сыворотке и массы тела пациента и стадию введения дозы пациенту, имеющему АМН 15 пмоль/л или более (например АМН 16 пмоль/л или более, например АМН более 19 пмоль/л, например АМН 26 пмоль/л или более, например АМН 28 пмоль/л или более, например АМН 40 пмоль/л или более) и массу тела менее 60 кг (например, массу тела менее 55 кг, например менее 52 кг, например менее 50 кг, например менее 45 кг, например менее 42 кг, например менее 31,5 кг).

В соответствии с настоящим изобретением в дополнительном аспекте предложен способ лечения бесплодия, включающий стадию введения суточной дозы, составляющей, или суточной дозы, эквивалентной 6-8 мкг рекомбинантного FSH, пациенту (например, пациенту женского пола), идентифицированному (до начала лечения) как имеющий АМН 15 пмоль/л или более (например АМН 16 пмоль/л или более, например АМН 19 пмоль/л или более, например АМН 26 пмоль/л или более, например АМН 28 пмоль/л или более, например АМН 40 пмоль/л или более) и идентифицированному (до начала лечения) как имеющий массу тела менее 60 кг (например, масса тела менее 55 кг, например менее 52 кг, например менее 50 кг, например менее 45 кг). Предпочтительно, суточная доза составляет от 6 до 8 мкг рекомбинантного FSH. Более предпочтительно, суточная доза составляет 6 мкг рекомбинантного FSH.

Способ может включать в себя стадию идентификации пациента (до начала

лечения) на основании уровня АМН в сыворотке и массы тела пациента. Способ может включать стадию введения дозы пациенту, идентифицированному как имеющий определенный уровень сывороточного АМН и определенную массу тела. Например, способ может включать в себя стадию идентификации пациента (до начала лечения) на основании уровня АМН в сыворотке и массы тела пациента, и стадию введения дозы пациенту, идентифицированному (до начала лечения) как имеющий АМН 15 пмоль/л или более (например АМН 16 пмоль/л или более, например АМН 19 пмоль/л или более, например АМН 26 пмоль/л или более, например АМН 28 пмоль/л или более, например АМН 40 пмоль/л или более) и идентифицированному (до начала лечения) как имеющий массу тела менее 60 кг [например, масса тела менее 55 кг, например менее 52 кг, например менее 50 кг, например менее 45 кг].

Способ можно применять для лечения бесплодия у азиатского пациента (например, японского, китайского, корейского, индийского).

Предпочтительно, пациент имеет (идентифицирован как имеющий) массу тела менее 52 кг (например менее 50 кг, например менее 45 кг) и имеет (идентифицирован как имеющий) АМН 26 пмоль/л или более (например АМН 28 пмоль/л или более), например АМН 30 пмоль/л или более, например АМН 40 пмоль/л или более).

Предпочтительно, FSH представляет собой рекомбинантный FSH (rFSH). Предпочтительно, rFSH (например, рекомбинантный FSH, полученный из линии клеток человека) включает α 2,3- и α 2,6-сиалирование. FSH (rFSH) для применения в соответствии с изобретением может иметь α 2,3-сиалирование, составляющее от 1% до 99% от общего сиалирования. FSH (rFSH) согласно изобретению может иметь α 2,6-сиалирование, составляющее от 1% до 99% от общего сиалирования. Предпочтительно, от 80 до 95%, например от 80 до 90%, например от 82 до 89%, например от 85 до 89% от общего сиалирования представляет собой α 2,3-сиалирование. Предпочтительно, от 5 до 20%, например от 10 до 20%, например от 11 до 18%, например от 11 до 15% от общего сиалирования представляет собой α 2,6-сиалирование. Под сиалированием подразумевается количество сиаловых остатков, присутствующих в углеводных структурах FSH. α 2,3-сиалирование означает сиалирование в положении 2,3 (как это хорошо известно в данной области), а α 2,6-сиалирование – в положении 2,6 (также хорошо известно в данной области). Таким образом, «% от общего сиалирования, может представлять собой α 2,3-сиалирование» относится к % от общего количества остатков сиаловой кислоты, присутствующих в FSH, которые сиалированы в положении 2,3. Термин «% от общего сиалирования, представляющий собой α 2,6-сиалирование»

относится к % от общего количества остатков сиаловой кислоты, присутствующих в FSH, которые сиалированы в положении 2,6. Рекомбинантный FSH может присутствовать в виде одной изоформы или в виде смеси изоформ.

Согласно настоящему изобретению в одном аспекте предложена композиция для применения в лечении бесплодия у пациента с АМН 26 пмоль/л или более и массой тела менее 52 кг, где композиция содержит суточную дозу рекомбинантного FSH от 6 до 8 мкг. Предпочтительно, пациент имеет (идентифицирован как имеющий) массу тела менее 52 кг (например менее 50 кг, например менее 45 кг) и имеет (идентифицирован как имеющий) АМН 26 пмоль/л или более (например АМН 28 пмоль/л или более, например АМН 30 пмоль/л или более, например АМН 40 пмоль/л или более).

В соответствии с настоящим изобретением в другом аспекте предложена композиция для применения в лечении бесплодия у пациента с АМН 26 пмоль/л или более и массой тела менее 61 кг, где композиция содержит суточную дозу, составляющую, или суточную дозу, эквивалентную 6 - 8 мкг рекомбинантного FSH. Предпочтительно, пациент имеет (идентифицирован как имеющий) массу тела менее 52 кг (например менее 50 кг, например менее 45 кг) и имеет (идентифицирован как имеющий) АМН 26 пмоль/л или более (например АМН 28 пмоль/л или более, например АМН 30 пмоль/л или более, например АМН 40 пмоль/л или более).

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение теперь будет описано более подробно со ссылкой на следующие примеры и Фиг. 1, на которой приведены масса тела и АМН всех пациентов в клиническом исследовании фазы II в Японии, обсуждаемом в ретроспективном анализе в Примере 3, и показано, какая доза Rekovelle® устанавливалась в соответствии с протоколом дозирования, представленным в Таблице А выше, менее 6 мкг (ромбы) или 6 мкг или более.

Пример 1. Rekovelle

Rekovelle® представляет собой рекомбинантный FSH, экспрессируемый в клеточной линии PER.C6®, сконструированной способами, описанными в WO2013/020996 и WO2009/127826A.

Владельцем регистрационного удостоверения на Rekovelle® является компания Ferring Pharmaceuticals A/S, Kay Fiskers Plads 11, 2300, Копенгаген, Дания, а в Великобритании – компания Ferring Pharmaceuticals, Drayton Hall, Church Road, West Drayton, UB7 7PS, Великобритания.

Активным веществом в Rekovelle® является фоллитропин дельта (FE999049).

Rekovelле является в высокой степени сиалированным и включает $\alpha 2,3$ - и $\alpha 2,6$ -сиалирование, причем примерно от 85% до 90% общего сиалирования составляет $\alpha 2,3$ -сиалирование и примерно от 10% до 15% общего сиалирования составляет $\alpha 2,6$ -сиалирование.

REKOVELLE представляет собой прозрачный и бесцветный раствор для инъекций (инъекции). Он доступен в упаковках с 1 картриджем и 3 шприцами-ручками с иглами. Каждый многодозовый картридж содержит 12 микрограммов фоллитропина дельта в 0,36 миллилитра раствора. Один миллилитр раствора содержит 33,3 микрограмма фоллитропина дельта в каждом миллилитре раствора. Другими ингредиентами являются фенол, полисорбат 20, L-метионин, натрия сульфата декагидрат, динатрийфосфата додекагидрат, концентрированная фосфорная кислота, гидроксид натрия и вода для инъекций.

Пример 2. Рандомизированное, слепое для экспертов, производящих оценку, стратифицированное по АМН исследование доза-ответ на японских пациентах, проходящих IVF/ICSI, которым производили контролируемую овариальную стимуляцию фоллитропином дельта

Рандомизированные, контролируемые, слепые для экспертов, производящих оценку, многоцентровые исследования 2 фазы в параллельных группах со стратификацией по антимюллерову гормону (АМН) проводили на пациентах, проходящих IVF/ICSI в Японии, для установления зависимости доза-ответ для FE 999049 и количества забранных яйцеклеток. Рандомизацию осуществляли на основе стратификации по уровню АМН при скрининге: низкий АМН (5,0-14,9 пмоль/л) или высокий АМН (15,0-44,9 пмоль/л).

Было 158 пациентов, от 20 до 39 лет (средний возраст 33,7 года), которым проводили COS с тремя уровнями дозы FE 999049, фоллитропина дельта (Ferring Pharmaceuticals). Дозы FE 999049 составляли 6 мкг/сутки, 9 мкг/сутки и 12 мкг/сутки, и в качестве контроля также включали стандартную терапию с применением одобренного продукта rFSH (FOLLISTIM, MSD, 150 IU/сутки). В настоящее время фоллитропин бета (FOLLISTIM) является единственным лекарственным продуктом, одобренным в Японии для контролируемой овариальной стимуляции в циклах IVF/ICSI.

Пациенты были рандомизированы для получения фиксированных доз по 6 мкг/сутки, 9 мкг/сутки и 12 мкг/сутки FE 999049 (n равно 117) или 150 IU фоллитропина бета (n равно 41). Рандомизацию осуществляли на основе стратификации по уровню АМН (низкий АМН – 5,0-14,9 пмоль/л; высокий АМН – 15,0-44,9 пмоль/л; Elecsys® АМН, Roche Diagnostics). Гонадотропин был начат на 2-3 сутки менструального цикла. Ganrelix

0,25 мг/сутки добавляли с 6-х суток стимуляции, а запуск окончательного созревания фолликулов осуществляли в сутки, когда наблюдалось 3 или более фолликулов диаметром 17 мм или более. OHSS оценивали с использованием классификации Голана.

Суточная доза была фиксированной на протяжении всего периода стимуляции. Статистически значимое отношение доза-ответ для FE 999049 по количеству забранных яйцеклеток наблюдалось для всей популяции и для каждой группы рандомизации АМН. При всех дозах FE 999049 был достигнут приемлемый процент беременностей.

В этом исследовании пациентам не вводили дозу в зависимости от массы тела, и ни один пациент не получал дозу FE 999049 ниже 6 мкг/сутки. В этом исследовании пациентов не идентифицировали до начала лечения по сочетанию АМН и массы тела.

Пример 3. Ретроспективный анализ исследования II фазы

Во многих азиатских странах (например, в Японии, Китае, Южной Корее и Индии) многие женщины имеют низкую массу тела по сравнению с женщинами в США и Западной Европе. Таким образом, существует риск того, что введение фиксированной дозы, подходящей для населения Европы, азиатским/японским пациентам может привести к тому, что пациенты с низкой массой тела получат дозу FSH, которая является высокой в расчете на кг массы тела. Это, в свою очередь, может привести к риску чрезмерного ответа и OHSS у этих пациентов. Традиционные протоколы FSH в «фиксированной дозе» могут быть причиной некоторых высоких показателей OHSS в японских исследованиях.

Протокол дозирования, приведенный в Таблице А выше, некоторым образом снижает этот риск, поскольку пациенты получают дозу в расчете на массу тела. Однако очень низкие дозы гонадотропинов потенциально ассоциированы с недостаточным рекрутированием фолликулов и слабым ответом яичников. Следовательно, существует риск того, что дозирование в соответствии с протоколом из Таблицы А может привести к тому, что пациенты с очень низкой массой тела и высоким АМН получат дозу FSH, которая может быть неоптимальной с точки зрения эффективности. Следовательно, существует необходимость в эффективной дозировке для пациентов с низкой массой тела (масса менее 60 кг) с высоким АМН для одновременного снижения риска чрезмерной стимуляции и OHSS у этих пациентов (которые могут быть более предрасположены к этому риску, поскольку у них высокий АМН и низкая масса тела).

В целом, в японском исследовании 2 фазы не было проблем с безопасностью при дозе FE 999049 6 мкг. Ретроспективно исследовали профиль безопасности у пациентов японского исследования 2 фазы с массой тела менее 60 кг. В качестве контекста для наблюдений в группе 6 мкг FE 999049 также показаны данные для группы контрольной

терапии с FOLLISTIM. В Таблице 1 приведены параметры безопасности, относящиеся к ответу яичников.

Таблица 1. Сравнение параметров безопасности ответа яичников для субъектов менее 60 кг, получавших 6 мкг FE 999049 или 150 IU FOLLISTIM – общие данные

	FE 999049		FOLLISTIM	
	6 мкг		150 IU	
	(n равно 29)		(n равно 33)	
	n	%	n	%
Ранний OHSS	4	13,8%	8	24,2%
Ранний умеренный/тяжелый OHSS	3	10,3%	7	21,2%
Запуск агонистом GnRH			1	3,0%
Забрано 15-19 яйцеклеток	1	3,4%	5	15,2%
Забрано 20 или более яйцеклеток			2	6,1%

Среди пациентов с массой тела менее 60 кг общее число пациентов с ранним OHSS составило 4 (13,8%) в группе, получавшей 6 мкг FE 999049, и 8 (24,2%) в группе, получавшей 150 IU FOLLISTIM. Ранний умеренный/тяжелый OHSS был отмечен у 3 (10,3%) пациентов и 7 (21,2%) пациентов в группах, получавших 6 мкг FE 999049 и 150 IU FOLLISTIM, соответственно. Кроме того, выход яйцеклеток, превышающий надлежащий ответ 8-14 яйцеклеток, наблюдался только у 1 пациента (3,4%) в группе, получавшей 6 мкг FE 999049, в отличие от 7 пациентов (21,2%) в группе, получавшей 150 IU FOLLISTIM. Чрезмерное развитие фолликулов до степени, требующей применения агониста GnRH, не наблюдалось ни у одного пациента в группе, получавшей 6 мкг FE 999049, но имело место у 1 пациента в группе, получавшей 150 IU FOLLISTIM. Таким образом, у пациентов с массой тела менее 60 кг, профиль безопасного ответа яичников, по-видимому, был лучше при получении 6 мкг FE 999049 по сравнению с 150 IU FOLLISTIM.

Таблица 1 охватывает всех пациентов с массой тела менее 60 кг, независимо от уровня АМН. Все пациенты с АМН менее 15 пмоль/л получают 12 мкг FE 999049. Поэтому ситуация, когда расчетная доза у пациента может составлять менее 6 мкг, но пациент получит 6 мкг, применима только к пациентам с АМН 15 пмоль/л или более. Данные по пациентам в японском исследовании 2 фазы, которые имели массу тела менее 60 кг и АМН 15 пмоль/л или более, представлены в Таблице 2.

Таблица 2. Сравнение параметров безопасности ответа яичников для субъектов менее 60 кг, получавших 6 мкг FE 999049 или 150 IU FOLLISTIM - высокий уровень АМН

	FE 999049		FOLLISTIM	
	6 мкг		150 IU	
	(n равно 18)		(n равно 22)	
	n	%	n	%
Ранний OHSS	4	22,2%	7	31,8%
Ранний умеренный/тяжелый OHSS	3	16,7%	6	27,3%
Запуск агонистом GnRH			1	4,5%
Забрано 15-19 яйцеклеток	1	5,6%	4	18,2%
Забрано 20 или более яйцеклеток			2	9,1%

Среди пациентов с массой тела менее 60 кг и АМН 15 пмоль/л или более общее количество пациентов с ранним OHSS составило 4 (22,2%) в группе, получавшей 6 мкг FE 999049, и 7 (31,8%) в группе, получавшей 150 IU FOLLISTIM. Умеренный/тяжелый OHSS был наиболее распространенной степенью тяжести среди ранних случаев OHSS и был отмечен у 3 (16,7%) пациентов в группе, получавшей 6 мкг FE 999049, и у 6 (27,3%) пациентов в группе, получавшей 150 IU FOLLISTIM. В то время как только у 1 пациента (5,6%) в группе, получавшей 6 мкг FE 999049, было забрано 15-19 яйцеклеток, это имело место у 4 пациентов (18,2%) в группе, получавшей 150 IU FOLLISTIM, где дополнительно у 2 (9,1%) пациентов было получено 20 или более яйцеклеток. Запуск агонистом GnRH из-за чрезмерного развития фолликулов не требовался в группе, получавшей 6 мкг FE 999049, но был необходим 1 пациенту в группе, получавшей 150 IU FOLLISTIM. Таким образом, контролируемая овариальная стимуляция 6 мкг FE 999049 у пациентов с массой тела менее 60 кг и с АМН 15 пмоль/л или более была ассоциирована с меньшим риском раннего OHSS и меньшим риском чрезмерного ответа яичников по сравнению с контролируемой овариальной стимуляцией 150 IU FOLLISTIM.

Что касается профиля нежелательных явлений у пациентов с массой тела менее 60 кг, то частота нежелательных явлений, которые исследователи расценивали как связанные с лекарственным средством, используемым для контролируемой овариальной стимуляции, составила 20,7% в группе, получавшей 6 мкг FE 999049, и 33,3% в группе, получавшей 150 IU FOLLISTIM. Среди пациентов с массой тела менее 60 кг и АМН 15 пмоль/л или более частота связанных побочных эффектов составила 27,8% в группе, получавшей 6 мкг

FE 999049, и 36,4% в группе, получавшей 150 IU FOLLISTIM.

С точки зрения эффективности, среди пациентов с массой тела менее 60 кг доля клинических беременностей на цикл с переносом составила 40,0% в группе, получавшей 6 мкг FE 999049, и 21,7% в группе, получавшей стандартную терапию. Среди пациентов с массой тела менее 60 кг и АМН 15 пмоль/л или более доля клинических беременностей на цикл с переносом составила 38,5% и 20,0% в группах, получавших 6 мкг FE 999049 и стандартную терапию, соответственно.

Наконец, в Fetting идентифицировали пациентов в японском исследовании 2 фазы, которые на основании показателей АМН и массы тела получили бы менее 6 мкг FE 999049 согласно индивидуализированной схеме дозирования FE 999049 (Таблица А выше), но в этом исследовании получили либо 6 мкг FE 999049, либо 150 IU FOLLISTIM согласно рандомизации. Это было только очень ограниченное количество пациентов (5 пациентов в группе, получавшей 6 мкг FE 999049, и 3 пациента в группе, получавшей 150 IU FOLLISTIM), но данные о безопасности ответа яичников согласовывались с представленными ранее. Ответ яичников в 15 или более яйцеклеток не наблюдали ни у одного из 5 пациентов в группе, получавшей 6 мкг FE 999049, но наблюдали у 2 из 3 пациентов (66,7%) в группе, получавшей 150 IU FOLLISTIM. Чрезмерное развитие фолликула, требующее запуска агонистом GnRH, не наблюдали ни у одного из 5 пациентов в группе, получавшей 6 мкг FE 999049, но наблюдали у 1 из 3 пациентов (33,3%) в группе, получавшей 150 IU FOLLISTIM. Ранний OHSS был отмечен у 1 из 5 пациентов (20,0%) в группе, получавшей 6 мкг FE 999049, и у 1 из 3 пациентов (33,3%) в группе, получавшей 150 IU FOLLISTIM.

Другими словами, авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что с учетом более низкой массы тела в японской популяции минимальную дозу можно уточнить как 6 мкг, чтобы избежать недостаточности дозы у японских пациентов с низкой массой тела и, таким образом, сохранить эффективность у этих пациентов, при этом избегая побочных эффектов, таких как OHSS.

В дополнение к данным о безопасности и эффективности 6 мкг FE 999049 в японском исследовании 2 фазы, подтверждающем целесообразность этой дозы, были проведены моделирования с использованием модели доза-ответ, которая была оценена в японском исследовании 2 фазы. Целью этих моделирований является оценка ожидаемой разницы в количестве яйцеклеток при предложенной схеме дозирования, где самой низкой дозой является 6 мкг, по сравнению со схемой дозирования, где разрешено, чтобы дозы были менее 6 мкг. Исходя из массы тела и уровней АМН у всех 158

рандомизированных пациентов в японском исследовании 2 фазы, 18 (11%) получают в соответствии с предложенной схемой дозирования дозу 6 мкг вместо расчетной дозы менее 6 мкг. Все эти пациенты имели массу тела менее 52 кг и значение АМН, превышающее 26 пмоль/л, как показано на Фиг. 1, где представлена масса тела и АМН всех пациентов в исследовании. На Фиг. 1 эти 18 пациентов обозначены ромбами (а не квадратами) в правом нижнем углу.

У 18 пациентов с расчетной дозой менее 6 мкг средняя расчетная доза составляет 5,33 мкг, и поэтому средняя доза в соответствии с предложенной схемой дозирования на 13% выше по сравнению со схемой, где нет минимума (средняя доза 6,0 мкг вместо 5,33 мкг).

Ожидается, что использование 6 мкг в качестве минимальной дозы положительно повлияет на ответ яичников. Ожидается, что предложенная схема дозирования, где минимальная доза составляет 6 мкг, позволит достичь цели в 8-14 забранных яйцеклеток у большего числа пациентов, для которых расчетная доза составляет менее 6 мкг (48,0% пациентов по сравнению с 44,8% при схеме без установления минимальной дозы), как показано в Таблице 3.

Таблица 3. Прогнозируемый результат у японских пациентов с расчетной дозой менее 6 мкг FE 999049

Результат воздействия FE 999049	Минимальная доза не устанавливается	Минимальная доза 6 мкг	Различие
Пациенты с забранными 8-14 яйцеклетками	44,8%	48,0%	+3,2%

Таким образом, в дополнение к наблюдаемым данным японского исследования 2 фазы, прогнозы на основании модели ответа яичников согласно предложенной схеме дозирования также подтверждают целесообразность минимальной дозы 6 мкг.

В заключение, предложенная схема дозирования FE 999049, включающая использование минимальной дозы 6 мкг является безопасной и эффективной, и предлагается для исследования 3 фазы в Японии. Данные исследования 3 фазы на японских пациентах с рассчитанной дозой менее 6 мкг будут проанализированы специально для отчета PMDA (Агентства фармацевтики и медицинского оборудования) для подтверждения эффективности и безопасности 6 мкг FE 999049 у этих пациентов.

Пример 10. Клиническое исследование 3 фазы в Японии.**Методика**

Это будет рандомизированное, слепое для экспертов, производящих оценку, контролируемое, многоцентровое исследование в параллельных группах для оценки эффективности и безопасности FE 999049 при индивидуализированной схеме дозирования при использовании японскими пациентами в возрасте 20-40 лет, проходящих первый цикл контролируемой овариальной стимуляции для IVF/ICSI по протоколу с антагонистом гонадотропин-рилизинг-гормона (GnRH). Исследование было разработано, чтобы продемонстрировать, что FE 999049 не уступает продукту rFSH, одобренному в Японии, то есть FOLLISTIM, по показателю количества забранных яйцеклеток.

Субъекты будут обследованы в течение 60 суток до начала стимуляции на соответствие критериям включения и исключения. На 2-3 сутки менструального цикла субъекты будут рандомизированы в соотношении 1:1 для контролируемой овариальной стимуляции посредством FE 999049 или FOLLISTIM. При рандомизации будет осуществляться стратификация по центрам, а также в соответствии с уровнями АМН при скрининге (менее 15 пмоль/л и 15 пмоль/л или более).

Субъектам, рандомизированным для получения FE 999049, индивидуальная доза FE 999049 будет определяться на основе их уровня АМН при скрининге и их массы тела в начале стимуляции (см. ниже). Суточная доза FE 999049 будет фиксированной в течение всего периода стимуляции. Для субъектов с АМН менее 15 пмоль/л суточная доза FE 999049 составляет 12 мкг независимо от массы тела. Для субъектов с АМН 15 пмоль/л или более суточная доза FE 999049 находится в диапазоне непрерывных значений от 0,19 до 0,10 мкг/кг, то есть зависит от фактических значений АМН и массы тела. Это изложено в Таблице ниже. Минимально допустимая суточная доза FE 999049 составляет 6 мкг, а максимально допустимая суточная доза FE 999049 составляет 12 мкг. Субъекты могут получать FE 999049 в течение максимум 20 суток, и отсрочка стимуляции овуляции не допускается.

Для субъектов, рандомизированных для получения FOLLISTIM, схема дозирования указана на этикетке (см. ниже). Начальная доза FOLLISTIM составляет 150 IU и фиксирована на первые пять суток стимуляции, после чего она может быть скорректирована на 75 IU в зависимости от индивидуального ответа. Максимально допустимая суточная доза FOLLISTIM составляет 375 IU. Субъекты могут получать FOLLISTIM в течение максимум 20 суток, и отсрочка стимуляции овуляции не допускается.

Во время стимуляции субъекты будут подвергаться мониторингу посредством трансвагинального ультразвукового исследования в 1 и 6 сутки стимуляции и затем по меньшей мере через сутки. При обнаружении 3 фолликулов 15 мм или более, посещения должны проводиться ежедневно. Для предотвращения преждевременного всплеска лютеинизирующего гормона (LH) будет начато введение антагониста GnRH на 6-е сутки стимуляции в суточной дозе 0,25 мг и продолжаться в течение всего периода стимуляции. Окончательное созревание фолликулов будет запущено с помощью 5000 IU хорионического гонадотропина из мочи человека (hCG) в сутки, когда обнаруживается 3 или более фолликулов диаметром 17 мм или более. В случае чрезмерного развития фолликулов, определяемого как 25 или более фолликулов диаметром 12 мм или более, цикл следует отменить (примечание: при наличии 25-30 фолликулов диаметром 12 мм или более, можно вводить агонист GnRH для запуска окончательного созревания фолликулов). В случае слабого развития фолликулов, определяемого исследователем, который считает, что 3 или более фолликулов диаметром 17 мм или более не могут быть достигнуты к 20 суткам, цикл следует прекратить.

Забор яйцеклеток будет осуществляться через 36 ч ($\pm$ 2 ч) после запуска окончательного созревания фолликулов, и оплодотворение яйцеклеток может осуществляться при помощи IVF или ICSI. Оплодотворение и развитие эмбриона будет оценено с момента забора яйцеклеток до суток переноса. Одна бластоциста наилучшего качества будет перенесена на 5-е сутки после забора яйцеклеток, а оставшиеся бластоцисты могут быть подвергнуты криоконсервации. У субъектов, которые подвергались запуску окончательного созревания фолликулов агонистом GnRH, перенос не будет осуществляться, и вместо этого бластоцисты могут быть заморожены на 5-е сутки. Все замороженные бластоцисты могут быть использованы субъектом после завершения исследования в соответствии с декларацией Японского общества акушерства и гинекологии (JSOG).

Будут обеспечивать вагинальные таблетки прогестерона (LUTINUS, Ferring Pharmaceuticals) по 100 мг три раза в сутки для поддержки лютеиновой фазы с суток после забора яйцеклетки и до суток посещения врача во время беременности. Поддержка лютеиновой фазы будет обеспечиваться только у субъектов, которым планируется проведение переноса, и может быть прекращена раньше в случае отсутствия переноса или отрицательного теста на β hCG. Тест на β hCG проводят через 13-15 суток после переноса с последующим трансвагинальным ультразвуковым исследованием через 5-6 недель после переноса для оценки клинической и жизнеспособной беременности.

Образцы крови будут собирать в ходе исследования для оценки эндокринного профиля, а также биохимических и гематологических показателей. Гормональные показатели определяют при скрининге, в 1-е сутки стимуляции, 6-е сутки стимуляции и в конце стимуляции. Биохимические и гематологические показатели оценивают при скрининге, в конце стимуляции и в конце исследования. Местная переносимость FE 999049 после подкожного введения будет оцениваться субъектами три раза в сутки: немедленно, через 30 минут и через 24 часа после инъекции. Оценка реакций в месте инъекции будет производиться в течение всего периода стимуляции и записываться субъектами в дневник.

Если процедуры и/или оценки в ходе исследования будут приходиться на воскресенье, праздничные дни или в нерабочие часы клиники, процедуры и/или оценки могут быть перенесены на следующий будний день (максимум на следующие сутки после запланированного визита) или отменены, если это приемлемо.

Обязательное последующее наблюдение будет включать сбор данных о течении и исходе беременности у субъектов с жизнеспособной беременностью. Будут собраны данные о продолжающейся беременности (через 10-11 недель после переноса) и исходе беременности, а также о здоровье новорожденных при рождении и через 4 недели после рождения. Наблюдение за течением беременности не включает никаких вмешательств, а только сбор данных. Данные наблюдений за течением беременности будут основаны на записях гинеколога/акушера субъекта и дневниках здоровья матери и ребенка. Исследовательские центры будут осуществлять сбор данных либо от гинеколога/акушера субъекта, либо от самого субъекта, либо из других источников, в зависимости от обстоятельств. Ferring намеревается представить J-NDA (заявка на регистрацию нового лекарственного средства в Японии) после завершения основной части исследования (то есть до посещения врача во время клинической беременности) и включить данные о наблюдении за беременностью, имеющиеся на тот момент, в J-NDA. Данные наблюдений за течением беременности могут быть представлены после завершения.

Количество субъектов

Приблизительно 328 субъектов будут рандомизированы в соотношении 1:1 для получения FE 999049 и FOLLISTIM.

Критерии включения/исключения

В данное исследование будут включены женщины, удовлетворяющие критериям для прохождения IVF и/или ICSI, проходящие первый цикл IVF/ICSI и имеющие диагноз трубного бесплодия, бесплодия, связанного с эндометриозом I/II стадии, или имеющие

партнеров с мужским бесплодием. Субъекты будут иметь возраст 20-40 лет, индекс массы тела (BMI) 17,5-32,0 кг/м².

Женщины с эндометриозом III/IV стадии, повторным выкидышем в анамнезе или с противопоказаниями к контролируемой овариальной стимуляции гонадотропинами будут исключены из участия в данном исследовании.

Полный список критериев включения и исключения приведен ниже.

Критерии включения

1. Документы об информированном согласии, подписанные до начала любых процедур, связанных с исследованием.
2. Хорошее физическое и психическое здоровье.
3. Японские женщины в возрасте от 20 до 40 лет. Субъектам должно быть по меньшей мере 20 лет (включая 20-й день рождения) при подписании документов об информированном согласии и не более 40 лет (вплоть до суток накануне 41-го дня рождения) на момент рандомизации.
4. Бесплодные женщины с диагностированным трубным бесплодием, необъяснимым бесплодием, эндометриозом I/II стадии (согласно пересмотренной классификации Американского общества репродуктивной медицины (ASRM), или имеющие партнеров, у которых диагностировано мужское бесплодие, имеющие право на экстракорпоральное оплодотворение (IVF) и/или внутрицитоплазматическую инъекцию сперматозоидов (ICSI) с использованием эякулированной спермы от мужчины-партнера.
5. Бесплодие в течение по меньшей мере 1 года до рандомизации (не применимо в случае трубного или тяжелого мужского бесплодия).
6. Цикл в ходе исследования будет первым циклом контролируемой овариальной стимуляции для IVF/ICSI.
7. Регулярные менструальные циклы 24-35 суток (включая 24 и 35 суток), предположительно овуляторные.
8. Гистеросальпингография, гистероскопия, солевая инфузионная сонография или трансвагинальное ультразвуковое исследование, документирующие, что матка соответствует предполагаемой нормальной функции (например, отсутствие признаков клинически интерферирующих фибромиом матки, определяемых как подслизистые фибромиомы или интрамуральные фибромиомы более 3 см в диаметре, отсутствие полипов и отсутствие врожденных структурных аномалий, связанных с пониженной вероятностью беременности) в пределах 1 года до обследования. Это также включает женщин, у которых было диагностировано любое из перечисленных выше медицинских

состояний, но они были исправлены путем оперативного вмешательства в течение 1 года до скрининга.

9. Трансвагинальное ультразвуковое исследование, документирующее наличие и адекватную визуализацию обоих яичников, без признаков значительной аномалии (например, отсутствие эндометриомы более 3 см или увеличения яичников, при которых может быть противопоказано применение гонадотропинов), а также фаллопиевы трубы и окружающие ткани без признаков значительной аномалии (например, отсутствие водянки маточных труб) в течение 1 года до скрининга. Оба яичника должны быть доступны для забора яйцеклеток.

10. Ранняя фолликулярная фаза (2-4 сутки цикла) с уровнями FSH в сыворотке от 1 до 15 IU/л (результаты получены в течение 3 месяцев до скрининга).

11. Отрицательные результаты определения поверхностного антигена гепатита В (HBsAg) в сыворотке, антител к вирусу гепатита С (HCV) и антител к вирусу иммунодефицита человека (HIV) в течение 1 года до скрининга.

12. Индекс массы тела (BMI) от 17,5 до 32,0 кг/м² (включая 17,5 и 32) при скрининге.

13. Желание принять перенос одной бластоцисты.

Критерии исключения

1. Известный эндометриоз III-IV стадии (согласно пересмотренной классификации ASRM).

2. Один или более чем один фолликул более 10 мм (включая кисты), наблюдаемый при трансвагинальном ультразвуковом исследовании до начала стимуляции в 1-е сутки стимуляции (допускается пункция кист до рандомизации).

3. Известный повторный выкидыш в анамнезе (определяется как три выкидыша подряд после ультразвукового подтверждения беременности (за исключением внематочной беременности) и до 24 недели беременности).

4. Известный аномальный кариотип субъекта или ее партнера. В случае серьезного нарушения выработки сперматозоидов (концентрация менее 1 млн/мл), должен быть документирован нормальный кариотип, включая отсутствие микроделеции Y-хромосомы.

5. Актуальная артериальная или венозная тромбоэмболия или тяжелый тромбофлебит, или наличие этих событий в анамнезе.

6. Известная порфирия.

7. Любое известное клинически значимое системное заболевание (например, инсулинозависимый диабет).

8. Известное наследственное или приобретенное тромбофилическое заболевание.
9. Любые известные эндокринные или метаболические нарушения (гипофиза, надпочечников, поджелудочной железы, печени или почки), которые могут негативно влиять на участие в исследовании, за исключением заболевания щитовидной железы с контролируемой ее функцией.
10. Известное наличие антител к FSH (на основании информации, доступной в выписках из истории болезни субъекта).
11. Известные опухоли яичника, молочной железы, матки, надпочечников, гипофиза или гипоталамуса, при которых противопоказано применение гонадотропинов.
12. Любое обнаруженное отклонение биохимических, гематологических показателей или основных показателей жизнедеятельности при скрининге, которое исследователь считает клинически значимым.
13. Известное умеренное или тяжелое нарушение функции почек или печени.
14. В настоящее время кормление грудью.
15. Недиагностированное вагинальное кровотечение.
16. Известные клинически значимые отклонения от нормы при цитологическом исследовании шейки матки, наблюдаемые в пределах 3 лет до скрининга (кроме случаев, когда клиническая значимость исчезла).
17. Результаты лабораторных анализов при скрининге, исключающие стимуляцию гонадотропином.
18. Данные гинекологического осмотра при скрининге, исключающие стимуляцию гонадотропином.
19. Результаты гинекологического обследования при скрининге, которые ассоциированы со снижением вероятности беременности, например врожденные аномалии матки или задержка внутриматочного устройства.
20. Беременность (должна быть подтверждена отрицательными результатами мочевых тестов на беременность при скрининге и до рандомизации) или противопоказание к беременности.
21. Известные в настоящее время активные воспалительные заболевания органов таза.
22. Использование гормональных препаратов (за исключением лекарственных средств для щитовидной железы) или регуляторов фертильности во время последнего менструального цикла перед скринингом, включая дегидроэпиандростерон (DHEA), метформин и программирование цикла при помощи оральных контрацептивов,

прогестагенных или эстрогенных препаратов.

23. Известная химиотерапия в анамнезе (за исключением гестационных состояний) или лучевая терапия.

24. Злоупотребление алкоголем или наркотиками в настоящее время или в прошлом (за 1 год до рандомизации) и/или текущее (последний месяц) употребление более 14 единиц алкоголя в неделю.

25. Привычка к курению более 10 сигарет в сутки в настоящее время или в прошлом (за 3 месяца до рандомизации).

26. Гиперчувствительность к любому лекарственному веществу или эксципиентам в составе лекарственных продуктов, используемых в исследовании.

27. Гиперчувствительность к любому лекарственному веществу или эксципиентам в составе GnRH или любого аналога/производного GnRH.

28. Предыдущее участие в исследовании.

29. Текущее участие в другом исследовании, включая период наблюдения.

30. Применение любых незарегистрированных экспериментальных лекарственных средств в течение последних 3 месяцев до скрининга.

Во 2-3 сутки менструального цикла субъекты будут рандомизированы в соотношении 1:1 для лечения FE 999049 или FOLLISTIM, и будет начата контролируемая овариальная стимуляция.

Схема дозирования FE 999049

Для субъектов, рандомизированных для получения FE 999049, индивидуальная доза будет определяться на основе уровня АМН при скрининге и их массы тела при рандомизации. Для субъектов с АМН менее 15 пмоль/л суточная доза FE 999049 составляет 12 мкг независимо от массы тела. Для субъектов с АМН 15 пмоль/л или более суточная доза FE 999049 находится в диапазоне непрерывных значений от 0,19 до 0,10 мкг/кг, то есть зависит от фактической АМН и массы тела.

Суточная доза FE 999049 будет фиксированной в течение всего периода стимуляции. Минимально допустимая суточная доза FE 999049 составляет 6 мкг. Максимально допустимая суточная доза FE 999049 составляет 12 мкг. Введение будет продолжаться до тех пор, пока не будет достигнут критерий запуска окончательного созревания фолликулов. Субъектов можно лечить с помощью FE 999049 в течение максимум 20 суток. Отсрочка стимуляции овуляции не допускается.

Полная схема дозирования FE 999049 подробно представлена в следующей таблице:

Группа лечения	Концентрация АМН (пмоль/л)	Суточная доза фиксированная на протяжении стимуляции	Минимальная суточная доза	Максимальная суточная доза
FE 999049	менее 15	12 мкг	-	12 мкг
	15-16	0,19 мкг/кг	6 мкг	12 мкг
	17	0,18 мкг/кг	6 мкг	12 мкг
	18	0,17 мкг/кг	6 мкг	12 мкг
	19-20	0,16 мкг/кг	6 мкг	12 мкг
	21-22	0,15 мкг/кг	6 мкг	12 мкг
	23-24	0,14 мкг/кг	6 мкг	12 мкг
	25-27	0,13 мкг/кг	6 мкг	12 мкг
	28-32	0,12 мкг/кг	6 мкг	12 мкг
	33-39	0,11 мкг/кг	6 мкг	12 мкг
	40 или более	0,10 мкг/кг	6 мкг	12 мкг

Концентрация АМН будет округляться до целых значений

Субъекты могут получать лечение самое большее в течение 20 суток.

Препарат FE 999049 вводят один раз в сутки в виде подкожной инъекции в живот. Дозу нельзя делить на две инъекции. Чтобы свести к минимуму местные реакции в месте инъекции, рекомендуется регулярно менять место инъекции.

Первая инъекция FE 999049 будет проводиться в клинике и будет осуществляться либо специалистом, проводящим исследование лекарственного средства, либо субъектом под контролем специалиста, проводящего исследование лекарственного средства. Последующие инъекции можно делать дома или в клинике. Специалист, проводящий исследование лекарственного средства, даст субъекту инструкции по введению FE 999049.

Расчет дозы FE 999049 и установка дозы FE 999049 в предварительно заполненном шприце-ручке

Концентрация АМН в сыворотке пациента будет определена в образце крови, взятом при скрининге и проанализированном в центральной лаборатории с использованием теста Elecsys® АМН от Roche Diagnostics. Концентрация АМН будет передана из центральной лаборатории непосредственно в eCRF (электронная история болезни). Массу тела субъекта будут измерять при рандомизации с использованием калиброванных весов и выполнять без обуви и верхней одежды. Результат измерения

массы тела будет введен в eCRF. В eCRF запрограммирован алгоритм введения FE 999049, в котором доза FE 999049 рассчитывается на основе АМН субъекта и массы тела.

Предварительно заполненный шприц-ручка для инъекций FE 999049 предназначен для подкожного введения FE 999049. Это нестерильное одноразовое устройство, снабженное иглой, со встроенным несменным 3-миллилитровым картриджем, содержащим жидкий лекарственный продукт FE 999049. Каждый картридж содержит несколько доз, величина которых регулируется пользователем. Можно установить дозы от 0,33 мкг до 20,0 мкг с шагом 0,33 мкг. Предварительно заполненный FE 999049 шприц-ручка для инъекций имеет шкалу дозирования, маркированную от 0 до 20 мкг. Каждое из чисел отделено двумя линиями, каждая линия соответствует 0,33 мкг. Предварительно заполненный шприц-ручка для инъекций может быть настроен на доставку доз, округленных до ближайших 0,33 мкг. Может потребоваться округление расчетной дозы, как, например, для субъекта массой 75,0 кг с уровнем АМН 35 пмоль/л, для которого расчетная доза составляет 8,25 мкг ($0,11 \text{ мкг/кг} \times 75,0 \text{ кг}$), которую затем округляют до 8,33 мкг, то есть 8 мкг плюс 1 линия на шприце-ручке. Расчетная доза будет предоставляться eCRF в виде распечатки, где дозе будут соответствовать числа и линии на предварительно заполненном шприце-ручке для инъекций; то есть любое округление будет выполняться автоматически перед предоставлением субъекту расчетной дозы.

Специалист, проводящий исследование лекарственного средства, будет проинструктирован и обучен правильному использованию предварительно заполненного шприца-ручки для инъекций, чтобы правильно проинструктировать субъекта.

5.1.2 Схема дозирования FOLLISTIM

Для субъектов, рандомизированных для получения FOLLISTIM, схема дозирования указана на этикетке. Начальная доза FOLLISTIM составляет 150 IU и фиксирована на первые пять суток стимуляции, после чего она может быть скорректирована на 75 IU в зависимости от индивидуального ответа. Максимально допустимая суточная доза FOLLISTIM составляет 375 IU. Дозирование будет продолжаться до тех пор, пока не будет достигнут критерий запуска окончательного созревания фолликулов. Субъекты могут получать FOLLISTIM в течение максимум 20 суток. Отсрочка стимуляции овуляции не допускается. Схема дозирования FOLLISTIM подробно показана в следующей Таблице.

Группа лечения	Начальная доза в 1-5 сутки стимуляции	Суточная доза в 6 сутки стимуляции и далее	Минимальная суточная доза	Максимальная суточная доза
FOLLISTIM	150 IU	Разрешается коррекция на 75 IU в зависимости от индивидуального ответа	75 IU	375 IU

Субъекты могут получать лечение самое большее в течение 20 суток.

Ссылки

Andersen CY, Westergaard LG, and van Wely M. (2004). FSH isoform composition of commercial gonadotrophin preparations: a neglected aspect? *Reprod Biomed Online*. **9(2)**, 231-236.

Arey BJ, Stevis PE, Deecher DC, Shen ES, Frail DE, Negro-Vilar A, and Lopez FJ. (1997) Induction of promiscuous G protein coupling of the follicle-stimulating hormone (FSH) receptor: a novel mechanism for transducing pleiotropic actions of FSH isoforms. *Mol Endocrinol*. **11(5)**, 517-526.

Baenziger JU and Green ED. (1988). Pituitary glycoprotein hormone oligosaccharides: structure, synthesis and function of the asparagine-linked oligosaccharides on lutropin, follitropin and thyrotropin. *Biochim Biophys Acta*. **947(2)**, 287-306.

Bassett RM, and Drievergen R. (2005). Continued improvements in the quality and consistency of follitropin alfa, recombinant human FSH. *Reprod Biomed Online*. **10(2)**, 169-177.

Damián-Matsumura P, Zaga V, Maldonado A, Sánchez-Hernández C, Timossi C, and Ulloa-Aguirre A. (1999). Oestrogens regulate pituitary alpha2,3-sialyltransferase messenger ribonucleic acid levels in the female rat. *J Mol Endocrinol*. **23(2)**, 153-165.

D'Antonio M., Borrelli F., Datola A., Bucci R., Mascia M., Polletta P., Piscitelli D., and Papoian R. (1999) Biological characterization of recombinant human follicle stimulating hormone isoforms. *Human Reproduction* **14**, 1160-1167

Dalpathado DS, Irungu J, Go EP, Butnev VY, Norton K, Bousfield GR, and Desaire H. (2006). Comparative glycomics of the glycoprotein follicle stimulating hormone: glycopeptide analysis of isolates from two mammalian species. *Biochemistry*. **45(28)**, 8665-8673.

Dias JA, Van Roey P. (2001). Structural biology of human follitropin and its receptor. *Arch Med Res*. **32(6)**, 510-519

Fiddes, J. C. and Goodman, H. M. (1979) Isolation, cloning and sequence analysis of the cDNA for the alpha-subunit of human chorionic gonadotropin. *Nature*, 281, 351-356.

Flack, M.R., Bennet, A.P., Froehlich, J. Anasti, JN and Nisula, B. (1994). Increased biological activity due to basic isoforms in recombinant human follicle-stimulating hormone produced in a human cell line. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **79**, 756–760

Fox KM, Dias JA, and Van Roey P. (2001). Three-dimensional structure of human follicle-stimulating hormone. *Mol Endocrinol.* **15(3)**, 378-89

Grabenhorst E, Hoffmann A, Nimtz M, Zettlmeissl G, and Conradt HS. (1995). Construction of stable BHK-21 cells coexpressing human secretory glycoproteins and human Gal(beta 1-4)GlcNAc-R alpha 2,6-sialyltransferase alpha 2,6-linked NeuAc is preferentially attached to the Gal(beta 1-4)GlcNAc(beta 1-2)Man(alpha 1-3)-branch of diantennary oligosaccharides from secreted recombinant beta-trace protein. *Eur J Biochem.* **232(3)**, 718-25.

Green ED and Baenziger JU. (1988). Asparagine-linked oligosaccharides on lutropin, follitropin, and thyrotropin. II. Distributions of sulfated and sialylated oligosaccharides on bovine, ovine, and human pituitary glycoprotein hormones. *J Biol Chem.* **263(1)**, 36-44.

Grundmann,U., Nerlich,C., Rein,T. and Zettlmeissl, G. (1990). Complete cDNA sequence encoding human beta-galactoside alpha-2,6-sialyltransferase. *G Nucleic Acids Res.* **18(3)**, 667

Howles, C.M. (1996). Genetic engineering of human FSH (Gonal-F). *Hum Reprod. Update*, **2**,172-191.

Kagawa Y, Takasaki S, Utsumi J, Hosoi K, Shimizu H, Kochibe N, and Kobata A. (1988). Comparative study of the asparagine-linked sugar chains of natural human interferon-beta 1 and recombinant human interferon-beta 1 produced by three different mammalian cells. *J Biol Chem.* **263(33)**, 17508-17515.

Keene, J.L., Matzuk, M.M., Otani, T., Fauser, B,C,J,M., Galway, A.B., Hsueh, A.J.W. and Boime, I. (1989). Expression of Biologically active Human Follitropin in Chinese Hamster Ovary Cells. *The Journal of Biological Chemistry*, **264(9)**, 4769-4775.

Kitagawa,H. and Paulson,J.C (1994) Cloning of a novel alpha 2,3-sialyltransferase that sialylates glycoprotein and glycolipid carbohydrate groups. *J. Biol. Chem.* **269(2)**, 1394-1401.

Lee EU, Roth J, and Paulson JC (1989) Alteration of terminal glycosylation sequences on N-linked oligosaccharides of Chinese hamster ovary cells by expression of beta-galactoside alpha 2,6-sialyltransferase. *J Biol Chem.* **264(23)**, 13848-13855.

de Leeuw, R., Mulders, J., Voortman, G. Rombout, F. Damm, J. and Kloosterboer, L. (1996) Structure-function relationship of recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). *Mol. Hum. Reprod.*, **2**, 361–369.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. (1951) Protein measurement with the

Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* **193(1)**, 265-75.

Lowry, PJ, McLean, C, Jones RL and Satgunasingam N. (1976) Purification of anterior pituitary and hypothalamic hormones *Clin Pathol Suppl (Assoc Clin Pathol)*. **7**, 16–21.

Olivennes F, Howles CM, Borini A, Germond M, Trew G, Wikland M, Zegers-Hochschild F, Saunders H (2009) Individualizing FSH dose for assisted reproduction using a novel algorithm: the CONSORT study. *Reprod Biomed Online*. 2009 Feb; **18(2)**:195-204.

Pierce JG, and Parsons TF (1981) Glycoprotein hormones: structure and function *Annu Rev Biochem.* **50**, 465-495.

Pricer WE Jr, and Ashwell G. (1971). The binding of desialylated glycoproteins by plasma membranes of rat liver. *J Biol Chem.* **246(15)**, 4825-33.

Rathnam P, and Saxena BB. (1975). Primary amino acid sequence of follicle-stimulating hormone from human pituitary glands. I. alpha subunit. *J Biol Chem.*; **250(17)**:6735-6746.

Regoeczi E, Debanne MT, Hatton MC, and Koj A. (1978) Elimination of asialofetuin and asialoorosomucoid by the intact rat. Quantitative aspects of the hepatic clearance mechanism. *Biochim Biophys Acta.* **541(3)**, 372-84.

Royle L, Radcliffe CM, Dwek RA and Rudd PM (2006) *Methods in Molecular Biology*, ed I Brockhausen-Schutzbach (Humana Press), 347: Glycobiology protocols, 125-144.

Ryan RJ, Keutmann HT, Charlesworth MC, McCormick DJ, Milius RP, Calvo FO and Vutyavanich T. (1987). Structure-function relationships of gonadotropins. *Recent Prog Horm Res.*; **43**,:383-429.

Saxena BB and Rathnam P. (1976) Amino acid sequence of the beta subunit of follicle-stimulating hormone from human pituitary glands. *J Biol Chem.* **251(4)**, 993-1005

Steelman SL, and Pohley FM. (1953) Assay of the follicle stimulating hormone based on the augmentation with human chorionic gonadotropin. *Endocrinology.* **53(6)**, 604-616.

Steer CJ, and Ashwell G. (1980) Studies on a mammalian hepatic binding protein specific for asialoglycoproteins. Evidence for receptor recycling in isolated rat hepatocytes. *J Biol Chem.* **255(7)**, 3008-13.

Svensson EC, Soreghan B, and Paulson JC. (1990) Organization of the beta-galactoside alpha 2,6-sialyltransferase gene. Evidence for the transcriptional regulation of terminal glycosylation. *J Biol Chem.* 265(34):20863-20868.

Takeuchi M, Takasaki S, Miyazaki H, Kato T, Hoshi S, Kochibe N, and Kobata A (1988). Comparative study of the asparagine-linked sugar chains of human erythropoietins purified from urine and the culture medium of recombinant Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem.* **263(8)**, 3657-3663.

Timossi CM, Barrios de Tomasi J, Zambrano E, González R, Ulloa-Aguirre A. (1998). A naturally occurring basically charged human follicle-stimulating hormone (FSH) variant inhibits FSH-induced androgen aromatization and tissue-type plasminogen activator enzyme activity in vitro. *Neuroendocrinology*. **67(3)**, 153-163.

Timossi CM, Barrios-de-Tomasi J, González-Suárez R, Arranz MC, Padmanabhan V, Conn PM, and Ulloa-Aguirre A. (2000). Differential effects of the charge variants of human follicle-stimulating hormone. *J Endocrinol*. **165(2)**, 193-205.

Ulloa-Aguirre, A., Espinoza, R., Damian-Matsumura, P. and Chappel, S.C. (1988) Immunological and biological potencies of the different molecular species of gonadotrophins. *Hum. Reprod*. **3**, 491–501.

Ulloa-Aguirre, A., Cravioto, A., Damián-Matsumura, P. Jimenez, M, Zambrano, E and Diaz-Sanchez, V. (1992) Biological characterization of the naturally occurring analogues of intrapituitary human follicle stimulating hormone. *Hum. Reprod*. **7**, 23–30.

Ulloa-Aguirre A, Midgley AR Jr, Beitins IZ, and Padmanabhan V. (1995). Follicle-stimulating isohormones: characterization and physiological relevance. *Endocr Rev*. **16(6)**, 765-787.

Ulloa-Aguirre A, Maldonado A, Damián-Matsumura P, and Timossi C (2001). Endocrine regulation of gonadotropin glycosylation. *Arch Med Res*. **32(6)**, 520-532.

Ulloa-Aguirre A, Timossi C, Barrios-de-Tomasi J, Maldonado A, and Nayudu P. (2003). Impact of carbohydrate heterogeneity in function of follicle-stimulating hormone: studies derived from in vitro and in vivo models. *Biol Reprod*. **69(2)**, 379-389.

Van Lenten L, and Ashwell G. (1972) The binding of desialylated glycoproteins by plasma membranes of rat liver. Development of a quantitative inhibition assay. *J Biol Chem*. **247(14)**, 4633-40.

Wide, L. and Albertsson-Wikland, K. (1990) Change in electrophoretic mobility of human follicle-stimulating hormone in serum after administration of gonadotropin-releasing hormone. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. **70**, 271–276.

Wide, L. and Bakos, O. (1993). More basic forms of both human follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in serum at midcycle compared with the follicular or luteal phase. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **76**, 885–889.

Wide L, Naessén T, Sundström-Poromaa I, Eriksson K. (2007) Sulfonation and sialylation of gonadotropins in women during the menstrual cycle, after menopause, and with polycystic ovarian syndrome and in men. *J Clin Endocrinol Metab.*; **92(11)**, 4410-4417.

Zambrano E, Zariñán T, Olivares A, Barrios-de-Tomasi J, and Ulloa-Aguirre A. (1999).

Receptor binding activity and in vitro biological activity of the human FSH charge isoforms as disclosed by heterologous and homologous assay systems: implications for the structure-function relationship of the FSH variants. *Endocrine*. **10(2)**, 113-121.

Zhang X, Lok SH, and Kon OL (1998) Stable expression of human alpha-2,6-sialyltransferase in Chinese hamster ovary cells: functional consequences for human erythropoietin expression and bioactivity. *Biochim Biophys Acta*. **1425(3)**, 441-452.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция для применения в лечении бесплодия у пациента, имеющего АМН (антимюллеров гормон) 15 пмоль/л или более и массу тела менее 60 кг, содержащая суточную дозу, составляющую, или суточную дозу, эквивалентную 6 - 8 мкг рекомбинантного FSH (фолликулостимулирующий гормон).

2. Композиция для применения по п. 1, где лечение бесплодия включает определение уровня АМН в сыворотке и массы тела пациента.

3. Композиция для применения в лечении бесплодия у пациента, идентифицированного как имеющий АМН 15 пмоль/л или более и массу тела менее 60 кг, содержащая суточную дозу, составляющую, или суточную дозу, эквивалентную 6 - 8 мкг рекомбинантного FSH.

4. Композиция для применения по п. 3, где лечение бесплодия включает стадию идентификации пациента на основе уровня АМН в сыворотке и массы тела пациента.

5. Композиция для применения по любому из пп. 1-4 для лечения пациента, имеющего или идентифицированного как имеющий массу тела менее 59 кг, например менее 56 кг, например менее 55 кг, например менее 52 кг, например менее 50 кг, например менее 45 кг, например менее 42 кг, например менее 31,5 кг.

6. Композиция для применения по любому из пп. 1-5 для лечения пациента, имеющего или идентифицированного как имеющий АМН 16 пмоль/л или более, например АМН 19 пмоль/л или более, например АМН 26 пмоль/л или более, например АМН 28 пмоль/л или более, например АМН 30 пмоль/л или более, например АМН 40 пмоль/л или более.

7. Композиция для применения по любому из пп. 1-6 для лечения пациента идентифицированного как имеющий массу тела менее 52 кг и АМН 26 пмоль/л или более.

8. Композиция для применения по п. 7, где лечение бесплодия включает стадию идентификации пациента на основе уровня АМН в сыворотке и массы тела пациента и стадию введения дозы пациенту, имеющему АМН 26 пмоль/л или более и массу тела менее 52 кг.

9. Композиция для применения по любому из пп. 1-8, для лечения бесплодия у азиатского пациента.

10. Композиция для применения по любому из пп. 1-9, содержащая суточную дозу, составляющую 6 мкг рекомбинантного FSH.

11. Композиция для применения по любому из пп. 1-10, где FSH представляет собой рекомбинантный FSH.

12. Композиция для применения по любому из пп. 1-11, где рекомбинантный FSH включает $\alpha 2,3$ - и $\alpha 2,6$ -сиалирование.

13. Лекарственное средство для лечения бесплодия у азиатского пациента (например, японского), включающее рекомбинантный фолликулостимулирующий гормон (FSH); где лекарственное средство вводят азиатскому пациенту (например, японскому), идентифицированному как имеющий уровень АМН в сыворотке 15 пмоль/л или более и массу тела менее 60 кг; и где лекарственное средство вводят в суточной дозе, составляющей, или суточной дозе, эквивалентной 6 - 8 мкг рекомбинантного FSH.

14. Лекарственное средство для применения по п. 13, где лечение бесплодия включает стадию определения уровня АМН в сыворотке и массы тела пациента и стадию введения дозы пациенту, имеющему определенный уровень АМН в сыворотке и определенную массу тела.

15. Способ лечения бесплодия, включающий стадию введения суточной дозы, составляющей, или суточной дозы, эквивалентной 6 - 8 мкг рекомбинантного FSH, пациенту (например, пациенту женского пола), идентифицированному как имеющий АМН 15 пмоль/л или более (например, АМН 16 пмоль/л или более, например АМН 19 пмоль/л или более, например АМН 26 пмоль/л или более, например АМН 28 пмоль/л или более, например АМН 40 пмоль/л или более) и массу тела менее 60 кг (например, массу тела менее 55 кг, например менее 52 кг, например менее 50 кг, например менее 45 кг).

16. Композиция для применения в лечении бесплодия у пациента, имеющего АМН 26 пмоль/л или более и массу тела менее 52 кг, содержащая суточную дозу, составляющую 6 - 8 мкг рекомбинантного FSH.

17. Композиция для применения в лечении бесплодия у пациента, имеющего АМН 26 пмоль/л или более и массу тела менее 61 кг, содержащая суточную дозу, составляющую, или суточную дозу, эквивалентную 6 - 8 мкг рекомбинантного FSH.

Фиг. 1. Масса тела и уровень АМН у пациентов

