

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202090894 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.07.03

(51) Int. Cl. C07K 16/18 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.10.02

(54) ДОЗИРОВАНИЕ И ВВЕДЕНИЕ АНТИТЕЛ ПРОТИВ C5 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ
С МЕМБРАНОПРОЛИФЕРАТИВНЫМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ

(31) 62/568,060; 62/652,615

(32) 2017.10.04; 2018.04.04

(33) US

(86) PCT/US2018/053976

(87) WO 2019/070714 2019.04.11

(71) Заявитель:
АЛЕКСИОН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Ремуцци Джузеппе, Руджененти Пьеро
(ИТ), Гао Сян (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к способам клинического лечения мембранопролиферативного гломерулонефрита (MPGN) посредством введения антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента.

202090894

A1

A1

202090894

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-562162EA/025

ДОЗИРОВАНИЕ И ВВЕДЕНИЕ АНТИТЕЛ ПРОТИВ C5 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С МЕМБРАНОПРОЛИФЕРАТИВНЫМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

По настоящей заявке испрашивается приоритет Предварительной заявки США No. 62/652615, поданной 4 апреля 2018 г., и Предварительной заявки США No. 62/568060, поданной 4 октября 2017 г. Полное содержание вышеупомянутых заявок приведено в настоящем описании посредством ссылки.

СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Настоящая заявка содержит список последовательностей, который подан в электронной форме в формате ASCII, и полное содержание которого, таким образом, приведено посредством ссылки. Указанная копия в формате ASCII, созданная 27 сентября 2018 г., названа AXJ-201PC_SL.txt и имеет размер 33104 байт.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Мембранопротериативный гломерулонефрит (также известный как «MPGN») является малораспространенной причиной хронического нефрита, которая может возникать в любом возрасте, в основном у детей и молодых взрослых (см., например, Alchi B., et al., *Pediatr. Nephrol.* (2010) 25:1409-1418). MPGN диагностируют на основании паттерна повреждения гломерулярного филтра, который может являться вторичным для гетерогенной группы заболеваний и может являться вторичным для хронической инфекции (гепатита С и В, бактериальной, грибковой и паразитарной инфекции), аутоиммунного заболевания (LES и, в некоторых случаях, синдрома Шегрена, ревматоидного артрита и смешанного заболевания соединительной ткани), злокачественных новообразований (моноклональной гаммопатии, В-клеточной лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза) или может являться первичным (см., например, Sethi S., et al., *Semin. Nephrol.* 2011; 31:341-8).

MPGN насчитывает приблизительно 7-10% из всех случаев подтвержденного по биопсии гломерулонефрита и оценен как третья или четвертая из лидирующих причин терминальной почечной недостаточности (ESRD) среди первичного гломерулонефрита. Типичные признаки MPGN при световой микроскопии включают увеличенное содержание мезангиальных клеток, эндокапиллярную пролиферацию и ремоделирование капиллярной стенки (с образованием двойных контуров); все из которых приводят к акцентированию лобулярности гломерулярных клубочков. Эти изменения возникают в результате отложения иммуноглобулинов, факторов комплемента, или и тех, и других, в гломерулярном мезангии и вдоль гломерулярных капиллярных стенок (см., например, Sethi S., et al., *N. Engl. J. Med.*, 2012; 366(12):1119-31).

Гиперактивация системы комплемента играет основную роль в патогенезе MPGN посредством классического пути, активируемого иммунными комплексами, и посредством альтернативного пути (см., например, Fakhouri F., et al., *Nat. Rev. Nephrol.*,

2010; 6:494-499). Нарушение регуляции альтернативного пути приводит к образованию продуктов активации комплемента, включая C3b и терминальные факторы комплемента, доставляемых без дискриминации ко всем клеточным поверхностям, включая поверхность гломерулярных капилляров, на которых это отложение запускает воспаление с последующим развитием MPGN (см., например, Fervenza FC, et al., *Nephrol. Dial Transplant* 2012; 27: 4288-4294).

Постоянно увеличивающиеся уровни в сыворотке компонентов комплемента C3, C4 или обоих обычно наблюдают у пациентов с MPGN. Низкие уровни компонентов C3 и C4 комплемента являются более распространенными при опосредованном иммунными комплексами MPGN, в то время как низкие уровни C3 и нормальные уровни C4 являются более распространенными при дисфункции альтернативного пути, особенно, в острой фазе. Нормальный уровень C3 не исключает дисфункции альтернативного пути (см., например, Sethi S, Fervenza FC., *N. Engl. J. Med.*, 2012; 366(12):1119-31).

Для всех типов MPGN опубликованы семейные формы, что позволяет предполагать, что генетические аномалии могут играть предрасполагающую роль в этом заболевании. Приобретенные и генетические аномалии, ассоциированные с гиперактивацией системы комплемента при MPGN, включают антитела против регулирующих комплемент белков [C3-конвертазы (нефротического фактора C3), фактора H, фактора I, фактора B], мутации в белках комплемента и в регулирующих комплемент белках (C3, факторе H, факторе I, MCP, CFHR 5, CFHR 3-1) (см., например, Bomback et al., *Nat. Rev. Nephrol.*, 2012; 8,634-642; и Servais A, et al., *Kidney Int.*, 2012 82, 454-464), и аллельные варианты (фактора H, C3, MCP) (см., например, Sethi S., et al., *Kidney Int.*, 2012 82, 465-473).

Клиническое проявление и течение являются необычайно изменчивыми: от доброкачественного и медленно прогрессирующего до быстро прогрессирующего уменьшения функции почек, и у большинства пациентов с нефротическим/нефротическим фенотипом присутствует прогрессирование до ESRD (см., например, Sethi S, Fervenza FC., *N. Engl. J. Med.*, 2012; 366(12):1119-31). Рецидивирующее заболевание также является распространенным признаком (30-65%) у пациентов с MPGN после трансплантации почки (Lorenz EC, et al., *Kidney Int.*, 2010; 77:721-8).

У пациентов с вторичным MPGN, лечение должно быть нацелено на достижение ремиссии первичного заболевания (инфекции, аутоиммунного заболевания, гематологической дискразии). Пациентов с нормальной функцией почек, без активности в мочевом осадке и с протеинурией ненефротического уровня, можно подвергать консервативному лечению с использованием блокирования ангиотензина II для контроля кровяного давления и уменьшения протеинурии (см., например, Ruggenenti P, et al., *Lancet* 1999; 354:359-364).

Как и для пациентов с первичным MPGN с нефротическим-нефротическим фенотипом, пробовали многочисленные терапевтические режимы, включая использование кортикостероидов и иммунодепрессантов (циклофосфамида, микофенолата мофетила,

циклоспорина, ритуксимаба), антикоагулянтов, тромболитических средств, плазмафереза и плазмообмена (см., например, Alchi B, Jayne D., *Pediatr. Nephrol.* (2010) 25:1409-1418). В то время как терапия кортикостероидами, по-видимому, является эффективной для детей, не существует доказательств, что стероиды являются эффективными для модификации прогрессирования заболевания у взрослых с идиопатическим MPGN (см., например, Tarshish P, et al., *Pediatr. Nephrol.* 1992;6:123-30). Гуманизированное моноклональное антитело против CD20 ритуксимаб использовали в попытке истощения В-клеток, ответственных за продукцию C3NeF, но результаты к настоящему времени ограничены (см., например, Smith R, et al., *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007; 18:2247-2456).

Отсутствие рандомизированных, контролируемых исследований и современное понимание того, что множество патогенных процессов приводит к MPGN, делает невозможным давать строгие рекомендации по лечению в этой популяции пациентов, в частности, для пациентов с первичными формами и более тяжелым заболеванием. Соответственно, целью настоящего изобретения является предоставление улучшенных способов для лечения пациентов с MPGN.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к композициям и способам для лечения MPGN у пациента-человека, включающим введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента. В одном варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент, вводят (или предназначают для введения), в соответствии с конкретным клиническим режимом дозирования (т.е., при конкретном уровне дозы и в соответствии с конкретным расписанием дозирования).

В одном варианте осуществления, MPGN представляет собой «опосредованный иммунными комплексами MPGN» (опосредованный IC MPGN). В другом варианте осуществления, MPGN представляет собой «опосредованный комплементом MPGN» (например, «C3-гломерулопатию» (также известную как «C3G»). В одном варианте осуществления, C3-гломерулопатия представляет собой болезнь плотного осадка (DDD) или C3-гломерулонефрит.

Иллюстративное антитело против C5 представляет собой экулизумаб, содержащий тяжелую и легкие цепи, имеющие последовательности, показанные в SEQ ID NO: 10 и 11, соответственно, или их антигенсвязывающие фрагменты и варианты. В других вариантах осуществления, антитело содержит CDR или переменные области тяжелой и легкой цепи из экулизумаба. В другом варианте осуществления, антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VH из экулизумаба, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VL из экулизумаба, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO: 8. В другом варианте осуществления, антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, имеющие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, имеющие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно. В другом варианте осуществления, антитело содержит области VH и

VL, имеющие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8, соответственно.

Другое иллюстративное антитело против C5 представляет собой антитело BNJ441 (также известное как ALXN1210), содержащее тяжелые и легкие цепи, имеющие последовательности, показанные в SEQ ID NO:14 и 11, соответственно, или их антигенсвязывающие фрагменты и варианты. В других вариантах осуществления, антитело содержит определяющие комплементарность области (CDR) или переменные области (VR) тяжелой и легкой цепи из антитела BNJ441. В другом варианте осуществления, антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи (VH) из антитела BNJ441, имеющие последовательность, показанную в SEQ ID NO:12, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи (VL) из антитела BNJ441, имеющие последовательность, показанную в SEQ ID NO:8. В другом варианте осуществления, антитело содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO:19, 18 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO:4, 5 и 6, соответственно.

В другом варианте осуществления, антитело содержит области VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO:12 и SEQ ID NO:8, соответственно.

В другом варианте осуществления, антитело содержит константную область тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO:13.

В другом варианте осуществления, антитело содержит вариант константной области Fc человека, который связывает неонатальный рецептор Fc человека (FcRn), где вариант CH3 константной области Fc человека содержит замены Met-429-Leu и Asn-435-Ser в остатках, соответствующих метионину 428 и аспарагину 434, каждый согласно нумерации EU.

В другом варианте осуществления, антитело содержит последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO:19, 18 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO:4, 5 и 6, соответственно, и вариант константной области Fc человека, который связывает неонатальный рецептор Fc человека (FcRn), где вариант CH3 константной области Fc человека содержит замены Met-429-Leu и Asn-435-Ser в остатках, соответствующих метионину 428 и аспарагину 434, каждый согласно нумерации EU.

Другое иллюстративное антитело против C5 представляет собой антитело BNJ421 (также известное как ALXN1211), содержащее тяжелые и легкие цепи, имеющие последовательности, показанные в SEQ ID NO:20 и 11, соответственно, или их антигенсвязывающие фрагменты и варианты. В другом варианте осуществления, антитело содержит CDR или переменные области тяжелой и легкой цепи из BNJ421. В другом варианте осуществления, антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VH из BNJ421, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:12, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VL из BNJ421, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID

NO:8. В другом варианте осуществления, антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, имеющие последовательности, указанные в SEQ ID NO:19, 18 и 3, соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, имеющие последовательности, указанные в SEQ ID NO:4, 5 и 6, соответственно. В другом варианте осуществления, антитело содержит области VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO:12 и SEQ ID NO:8, соответственно.

В другом варианте осуществления, антитело конкурирует за связывание и/или связывается с тем же самым эпитопом на C5, что и вышеупомянутые антитела. В другом варианте осуществления, антитело имеет по меньшей мере приблизительно 90% идентичность аминокислотной последовательности вариабельной области с вышеупомянутыми антителами (например, по меньшей мере приблизительно 90%, 95% или 99% идентичность вариабельной области с SEQ ID NO:12 и SEQ ID NO:8).

Соответственно, в одном аспекте, настоящее изобретение относится к способам лечения пациента-человека с MPGN, включающим введение пациенту эффективного количества антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента. В одном варианте осуществления, пациент представляет собой взрослого пациента, как определено, имеющего подтвержденный по биопсии MPGN, выведение креатинина более 20 мл/мин на 1,73 м² и/или 24-часовую протеинурию, превышающую 3,5 г. В другом варианте осуществления, пациент представляет собой пациента детского возраста, как определено, имеющего подтвержденный по биопсии MPGN, выведение креатинина более 20 мл/мин на 1,73 м² и/или 24-часовую протеинурию, превышающую 40 мг/час/м² (или превышающую 2 мг белка/мг креатинина в образцах разовой порции мочи). В следующем варианте осуществления, пациент (например, пациент детского возраста или взрослый пациент), как определено, имеет также постоянно низкие уровни C3, по меньшей мере в двух последовательных определениях, и/или постоянно высокие уровни sC5b9 (>1000 нг/мл), по меньшей мере в двух предшествующих последовательных определениях.

В одном варианте осуществления, доза антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента представляет собой постоянную фиксированную дозу. Например, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент можно вводить в фиксированной дозе 300 мг, 600 мг, 900 мг или 1200 мг. В конкретных вариантах осуществления, режимы дозирования корректируют для обеспечения оптимального желательного ответа (например, эффективного ответа).

В одном варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент, (например, экулизумаб) вводят взрослому пациенту (а) еженедельно в дозе 900 мг в течение четырех недель и (b) один раз в каждые 14±2 суток (например, приблизительно две недели) после этого в дозе 1200 мг. В другом варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент (например, экулизумаб) вводят взрослому пациенту в соответствии с циклом введения, включающим (а) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где: (а) фаза индукции включает период четыре недели, где антитело против C5 или его антигенсвязывающий

фрагмент вводят в дозе 900 мг один раз в неделю; и (b) во время фазы поддержания, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят один раз в дозе 1200 мг на пятой неделе цикла введения, с последующими 1200 мг каждые 14 ± 2 суток после этого.

В другом варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент (например, экулизумаб) вводят пациенту детского возраста в соответствии с циклом введения, включающим (a) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где:

(a) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы индукции в дозе:

1. 900 мг один раз в неделю в течение четырех недель для пациента ≥ 40 кг;
2. 600 мг один раз в неделю в течение двух недель для пациента $30 \text{ кг} < 40 \text{ кг}$;
3. 600 мг один раз в неделю в течение двух недель для пациента $20 \text{ кг} < 30 \text{ кг}$;
4. 600 мг один раз в неделю в течение одной недели для пациента $10 \text{ кг} < 20 \text{ кг}$;
5. 300 мг один раз в неделю в течение одной недели для пациента $5 \text{ кг} < 10 \text{ кг}$; и

(b) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы поддержания в дозе:

1. 1200 мг на пятой неделе цикла введения, с последующими 1200 мг каждые две недели после этого, для пациента ≥ 40 кг;
2. 900 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 900 мг каждые две недели после этого, для пациента $30 \text{ кг} < 40 \text{ кг}$;
3. 600 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 600 мг каждые две недели после этого, для пациента $20 \text{ кг} < 30 \text{ кг}$;
4. 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые две недели после этого, для пациента $10 \text{ кг} < 20 \text{ кг}$; или
5. 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые три недели после этого, для пациента $5 \text{ кг} < 10 \text{ кг}$.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение относится к способам лечения пациента-человека детского возраста с MPGN, включающим введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно, где способ включает цикл введения, включающий (a) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе:

a) 900 мг один раз в неделю в течение четырех недель во время фазы индукции, 1200 мг на пятой неделе цикла введения, с последующими 1200 мг каждые две недели после этого во время фазы поддержания, для пациента ≥ 40 кг;

b) 600 мг один раз в неделю в течение двух недель во время фазы индукции, 900 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 900 мг каждые две недели после этого

во время фазы поддержания, для пациента 30 кг - < 40 кг;

с) 600 мг один раз в неделю в течение двух недель во время фазы индукции, 600 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 600 мг каждые две недели после этого во время фазы поддержания, для пациента 20 кг - < 30 кг;

д) 600 мг один раз в неделю в течение одной недели во время фазы индукции, 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые две недели после этого во время фазы поддержания, для пациента 10 кг - < 20 кг;

е) 300 мг один раз в неделю в течение одной недели во время фазы индукции, 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые три недели после этого во время фазы поддержания, для пациента 5 кг - < 10 кг.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение относится к способам лечения пациента-человека детского возраста с MPGN ≥ 40 кг, включающим введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно, где способ включает цикл введения, включающий (а) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где:

(а) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы индукции в дозе 900 мг один раз в неделю в течение четырех недель; и

(b) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы поддержания в дозе 1200 мг на пятой неделе цикла введения, с последующими 1200 мг каждые две недели после этого.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение относится к способам лечения пациента-человека детского возраста с MPGN 30 кг - < 40 кг, включающим введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно, где способ включает цикл введения, включающий (а) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где:

(а) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы индукции в дозе 600 мг один раз в неделю в течение двух недель; и

(b) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы поддержания в дозе 900 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 900 мг каждые две недели после этого.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение относится к способам лечения пациента-человека детского возраста с MPGN 20 кг - < 30 кг, включающим введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно, где способ включает цикл введения,

включающий (а) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где:

(а) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы индукции в дозе 600 мг один раз в неделю в течение двух недель; и

(b) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы поддержания в дозе 600 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 600 мг каждые две недели после этого.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение относится к способам лечения пациента-человека детского возраста с MPGN 10 кг - < 20 кг, включающим введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно, где способ включает цикл введения, включающий (а) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где:

(а) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы индукции в дозе 600 мг один раз в неделю в течение одной недели; и

(b) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы поддержания в дозе 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые две недели после этого.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение относится к способам лечения пациента-человека детского возраста с MPGN 5 кг - < 10 кг, включающим введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно, где способ включает цикл введения, включающий (а) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где:

(а) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы индукции в дозе 300 мг один раз в неделю в течение одной недели; и

(b) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы поддержания в дозе 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые три недели после этого.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение относится к способу лечения взрослого пациента-человека с MPGN, включающему введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно,

где пациент, как определено, имеет подтвержденный по биопсии MPGN, выведение креатинина более 20 мл/мин на 1,73 м², и/или 24-часовую протеинурию, превышающую 3,5 г, у взрослых, и

где способ включает цикл введения, включающий (а) фазу индукции с

последующей (b) фазой поддержания, где:

(a) фаза индукции включает период четыре недели, где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе 900 мг один раз в неделю; и

(b) во время фазы поддержания, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят один раз в дозе 1200 мг на пятой неделе цикла введения, с последующими 1200 мг каждые 14 ± 2 суток после этого.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение относится к способу лечения пациента-человека детского возраста с MPGN, включающему введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO:1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO:4, 5 и 6, соответственно,

где пациент, как определено, имеет подтвержденный по биопсии MPGN, выведение креатинина более 20 мл/мин на $1,73 \text{ м}^2$, и/или 24-часовую протеинурию, превышающую 40 мг/час/ м^2 , у детей (или превышение 2 мг белка/мг креатинина в образцах разовой порции мочи у детей), и

где способ включает цикл введения, включающий (a) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где:

(a) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы индукции в дозе:

1. 900 мг один раз в неделю в течение четырех недель для пациента $\geq 40 \text{ кг}$;
2. 600 мг один раз в неделю в течение двух недель для пациента $30 \text{ кг} - < 40 \text{ кг}$;
3. 600 мг один раз в неделю в течение двух недель для пациента $20 \text{ кг} - < 30 \text{ кг}$;
4. 600 мг один раз в неделю в течение одной недели для пациента $10 \text{ кг} - < 20 \text{ кг}$;
5. 300 мг один раз в неделю в течение одной недели для пациента $5 \text{ кг} - < 10 \text{ кг}$; и

(b) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы поддержания в дозе:

1. 1200 мг на пятой неделе цикла введения, с последующими 1200 мг каждые две недели после этого, для пациента $\geq 40 \text{ кг}$;
2. 900 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 900 мг каждые две недели после этого, для пациента $30 \text{ кг} - < 40 \text{ кг}$;
3. 600 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 600 мг каждые две недели после этого, для пациента $20 \text{ кг} - < 30 \text{ кг}$;
4. 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые две недели после этого, для пациента $10 \text{ кг} - < 20 \text{ кг}$; или
5. 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые три недели после этого, для пациента $5 \text{ кг} - < 10 \text{ кг}$.

В другом варианте осуществления, 2400 мг или 3000 мг антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента (например, BNJ441) вводят пациенту массой $\geq 40 - < 60 \text{ кг}$. В другом варианте осуществления, 2700 мг или 3300 мг антитела против C5 или его

антигенсвязывающего фрагмента (например, BNJ441) вводят пациенту массой $\geq 60 - < 100$ кг. В другом варианте осуществления, 3000 мг или 3600 мг антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента (например, BNJ441) вводят пациенту массой ≥ 100 кг.

В другом варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент (например, BNJ441) вводят в течение одного или нескольких циклов введения. В одном варианте осуществления, цикл введения составляет 26 недель. В одном варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент (например, BNJ441) вводят один раз на сутки 1 цикла введения, один раз на сутки 15 цикла введения, и каждые восемь недель после этого.

В другом варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент (например, BNJ441) вводят:

(а) один раз на сутки 1 цикла введения в дозе: 2400 мг для пациента массой $\geq 40 - < 60$ кг, 2700 мг для пациента массой $\geq 60 - < 100$ кг, или 3000 мг для пациента массой ≥ 100 кг; и

(b) на сутки 15 цикла введения и каждые восемь недель после этого в дозе 3000 мг для пациента массой $\geq 40 - < 60$ кг, 3300 мг для пациента массой $\geq 60 - < 100$ кг, или 3600 мг для пациента массой ≥ 100 кг.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения взрослого пациента-человека с MPGN, включающему введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO:19, 18 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO:4, 5 и 6, соответственно,

где пациент, как определено, имеет подтвержденный по биопсии MPGN, выведение креатинина более 20 мл/мин на 1,73 м², и/или 24-часовую протеинурию, превышающую 3,5 г, и

где способ включает цикл введения, и где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят:

(а) один раз на сутки 1 цикла введения в дозе: 2400 мг для пациента массой $\geq 40 - < 60$ кг, 2700 мг для пациента массой $\geq 60 - < 100$ кг или 3000 мг для пациента массой ≥ 100 кг; и

(b) на сутки 15 цикла введения и каждые восемь недель после этого в дозе 3000 мг для пациента массой $\geq 40 - < 60$ кг, 3300 мг для пациента массой $\geq 60 - < 100$ кг или 3600 мг для пациента массой ≥ 100 кг.

В другом варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в течение по меньшей мере 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 или 60 недель. В другом варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в течение по меньшей мере одного, двух, трех, четырех, пяти или шести лет. В другом варианте осуществления, антитело против C5 или

его антигенсвязывающий фрагмент вводят длговременно и непрерывно.

Антитела против C5 или их антигенсвязывающие фрагменты, можно вводить пациенту любыми способами. В одном варианте осуществления, антитела составляют для внутривенного введения. В одном варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят взрослому пациенту-человеку посредством внутривенной инфузии в течение периода от 25 минут до 45 минут. В другом варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят взрослому пациенту-человеку посредством внутривенной инфузии в течение периода, не превышающего двух часов. В другом варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту-человеку детского возраста в возрасте от 12 лет до не более 18 лет посредством внутривенной инфузии в течение периода, не превышающего двух часов. В другом варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту-человеку детского возраста в возрасте менее 12 лет посредством внутривенной инфузии в течение периода, не превышающего четырех часов.

Кроме того, пациенту можно вводить одно или несколько подходящих лекарственных средств, до введения антител против C5 или их антигенсвязывающих фрагментов. Например, в одном варианте осуществления, пациенту вводят противоменингококковую вакцину до лечения с использованием антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента. В другом варианте осуществления, пациенту вводят один или несколько антибиотиков до лечения с использованием антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента.

До лечения с использованием антител против C5 или их антигенсвязывающих фрагментов, пациент может иметь одну или несколько определенных характеристик, включая, но без ограничения, «протеинурию» (просачивание белка из крови в мочу), «гематурию» (кровь в моче), изменения психического состояния (например, уменьшение внимательности или уменьшение концентрации), мутную, темную или пенистую мочу, уменьшение объема мочи, уменьшение уровней в сыворотке компонентов комплемента C3 или C4, увеличение уровней sC5b9 (например, >1000 мг/мл) и/или отек любой части тела.

Эффективность способов лечения, в рамках изобретения, можно оценивать с использованием любых подходящих способов. Пациенты, подвергнутые лечению в соответствии со способами, описанными в настоящем описании, предпочтительно, испытывают улучшение по меньшей мере одного признака MPGN. Например, лечение может оказывать по меньшей мере один терапевтический эффект, выбранный из группы, состоящей из уменьшения или прекращения протеинурии и/или гематурии, полной или частичной ремиссии MPGN, уменьшения отека, улучшения функции почек и параметров почечной гемодинамики, и/или исходных уровней C3, C4 и/или sC5b9.

В другом варианте осуществления, лечение уменьшает 24-часовую протеинурию на неделе 4 (через 1 месяц), неделе 8 (через 2 месяца), неделе 12 (через 3 месяца), неделе

16 (через 4 месяца), неделе 20 (через 5 месяцев), неделе 24 (через 6 месяцев), неделе 28 (через 7 месяцев), неделе 32 (через 8 месяцев), неделе 36 (через 9 месяцев), неделе 40 (через 10 месяцев), неделе 44 (через 11 месяцев) или неделе 48 (через 12 месяцев), по сравнению с исходной. В конкретном варианте осуществления, лечение уменьшает 24-часовую протеинурию на неделе 24 (через 6 месяцев), по сравнению с исходной. В другом конкретном варианте осуществления, лечение уменьшает 24-часовую протеинурию на неделе 48 (через 12 месяцев), по сравнению с исходной. В одном варианте осуществления, лечение уменьшает протеинурию на приблизительно 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или более, по сравнению с отсутствием лечения.

В другом варианте осуществления, лечение приводит к полной или частичной ремиссии MPGN. В другом варианте осуществления, лечение обеспечивает сдвиг по направлению к нормальным уровням соотношения альбумина/креатинина в моче, сывороточного креатинина, выведения креатинина, общего уровня сывороточных белков, сывороточного альбумина, уровней LDL-, HDL-холестерина и триглицеридов, гематокрита и/или концентрации гемоглобина. В другом варианте осуществления, лечение улучшает один или несколько параметров функции почек, выбранных из группы, состоящей из скорости клубочковой фильтрации (GFR) (например, как оценено посредством измерения выведения иогексола из плазмы), фракционного выведения альбумина, IgG, натрия, калия и индекса сопротивления почек (например, как оценено посредством ультразвукового исследования).

Кроме того, настоящее изобретение относится к наборам, включающим фармацевтическую композицию, содержащую антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент, такое как экулизумаб, BNJ441 или BNJ421, и фармацевтически приемлемый носитель, в терапевтически эффективном количестве, адаптированном для использования в способах, описанных в настоящем описании.

В одном варианте осуществления, набор содержит дозу антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего: последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO:1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO: 4, 5 и 6; и инструкции для использования антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента в любом из способов, описанных в настоящем описании.

В другом варианте осуществления, набор содержит дозу антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO:19, 18 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO:4, 5 и 6; и инструкции для использования антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента в любом из способов, описанных в настоящем описании.

Настоящее изобретение относится также к антителам против C5 или их антигенсвязывающим фрагментам, для введения в соответствии с конкретным клиническим режимом дозирования (т.е., при конкретном уровне дозы и в соответствии с

конкретным расписанием дозирования).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Фигура 1 представляет собой блок-схему, изображающую расписание осмотров при исследовании.

Фигура 2 представляет собой блок-схему, изображающую регистрацию пациентов.

На **фигурах 3А и 3В** показаны уровни sC5b9 (**фигура 3А**) и 24-часовое выделение белка в моче (**фигура 3В**) на протяжении курса лечения (1 год), восстановления (3 месяца) и фазы продления (1 год).

На **фигурах 4А и 4В** показаны уровни 24-часового выделения сывороточного альбумина в моче (**фигура 4А**) и скорость клубочковой фильтрации (**фигура 4В**) на протяжении курса лечения (1 год), восстановления (3 месяца) и фазы продления (1 год).

На **фигурах 5А и 5В** показаны уровни sC5b9 (**фигура 5А**) и 24-часовое выделение белка в моче (**фигура 5В**) на протяжении курса лечения (1 год), восстановления (3 месяца) и фазы продления (1 год) для очевидного «не отвечающего пациента».

На **фигурах 6А и 6В** показаны уровни 24-часового выделения сывороточного альбумина в моче (**фигура 6А**) и скорость клубочковой фильтрации (**фигура 6В**) на протяжении курса лечения (1 год), восстановления (3 месяца), и фазы продления (1 год) для очевидного «не отвечающего пациента».

На **фигуре 7** показаны изменения клинических и лабораторных параметров во время двух периодов лечения с использованием экулизумаба (от недели 0а до недели 48а и от недели 0b до недели 48b) и периода вымывания (от недели 48а до недели 0b), по сравнению с исходными.

На **фигурах 8А-8D** показана гистология для очевидного «не отвечающего пациента» в исходной точке (**фигуры 8А и 8В**) и через 2 года (**фигуры 8С и 8D**).

На **фигуре 9** показана оцененная (eGFR) и измеренная (mGFR) скорости клубочковой фильтрации на протяжении курса лечения (1 год), восстановления (3 месяца) и фазы продления (1 год) для подвергнутых лечению с использованием экулизумаба пациентов.

Фигуры 10А-10D представляют собой репрезентативные обнаружения при биопсии почек до и после лечения для двух пациентов с диагнозом IC-MPGN.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

I. Определения

В рамках изобретения, термин «субъект» или «пациент» представляет собой пациента-человека (например, пациента детского возраста или взрослого пациента, имеющего мембранопролиферативный гломерулонефрит).

В рамках изобретения, термин «гломерулонефрит» относится к воспалению гломерул (структур почки, помогающих отфильтровывать отходы и жидкости из крови для образования мочи).

В рамках изобретения, «мембранопролиферативный гломерулонефрит» (также известный как «MPGN», «мезангиокапиллярный гломерулонефрит» или «MCGN»)

представляет собой форму гломерулонефрита, вызванную аномальным иммунным ответом. Отложения антител собираются в части почек, называемой гломерулярной базальной мембраной (которая помогает отфильтровывать отходы и избыточную жидкость из крови). Повреждение этой мембраны влияет на способность почки к нормальному образованию мочи. Это может позволять крови и белку просачиваться в мочу. Если достаточное количество белка просачивается в мочу, жидкость может просачиваться из кровеносных сосудов в ткани организма, приводя к отеку (например, набуханию). Азотные отходы также могут накапливаться в крови (что также известно как «азотемия»). Симптомы включают, но без ограничения, «протеинурию» (просачивание белка из крови в мочу), «гематурию» (кровь в моче), изменения психического состояния (например, уменьшение внимательности или уменьшение концентрации), мутную, темную или пенистую мочу, уменьшение объема мочи, уменьшение уровней в сыворотке компонентов комплемента C3 или C4, увеличение уровней sC5b9 (например, >1000 мг/мл) и/или отек любой части тела).

MPGN является малораспространенной причиной хронической протеинурической нефропатии (заболеваемость содержит ~5 на миллион индивидуумов в год), которая может являться первичной или вторичной по отношению к инфекции вирусом гепатита С и другим инфекциям, аутоиммунным заболеваниям и злокачественным новообразованиям (см., Marina Noris, et al., American Journal of Kidney Diseases, Volume 66, Issue 2, August 2015, Pages 359-375). Начало MPGN может возникать от детства до позднего взрослого возраста. Клиническое проявление является изменчивым и лежит в диапазоне от бессимптомной гематурии и протеинурии до острого нефритического синдрома, нефротического синдрома, хронической почечной недостаточности или даже быстро прогрессирующего гломерулонефрита, приводящего к терминальной почечной недостаточности.

MPGN характеризуется увеличенным содержанием мезангиальных клеток и расширением матрикса, с утолщением гломерулярных капилляров (с образованием двойных контуров), смещением лейкоцитов и мезангиальных клеток, и синтезом нового GBM, приводящим к акцентированию лобулярности гломерулярных клубочков (см., Marina Noris, et al., American Journal of Kidney Diseases, Volume 66, Issue 2, August 2015, Pages 359-375). Этот паттерн повреждения возникает в результате отложения иммунных комплексов и/или факторов комплемента в гломерулярном мезангии и вдоль гломерулярных капиллярных стенок, и его легко распознать посредством световой и иммунофлуоресцентной микроскопии.

Традиционно, на основании обнаружений при электронной микроскопии, MPGN классифицирован как тип I, с субэндотелиальными электроноплотными отложениями; тип II (также называемый «болезнью плотного осадка» или «DDD»), с внутримембранными высоко электроноплотными отложениями; и тип III, как с субэндотелиальными, так и с субэпителиальными отложениями. Однако, эти категории имеют ограниченную прогностическую ценность из-за их комплексности и появления признаков, позволяющих

предполагать более 1 типа в одних и тех же образцах биопсии.

Предложена новая классификация на основе патогенеза и состава гломерулярных отложений, как проанализировано посредством иммунофлуоресцентной микроскопии. MPGN, ассоциированный с значительными отложениями иммуноглобулинов, назван «опосредованным иммунными комплексами MPGN» («опосредованным IC MPGN») и обычно ассоциирован с хроническими инфекциями или аутоиммунными заболеваниями (см. Marina Noris, et al., American Journal of Kidney Diseases, Volume 66, Issue 2, August 2015, Pages 359-375). При этих вторичных формах, тщательная характеристика отложений часто может помочь идентифицировать лежащую в основе причину. Отложения IgM, IgG, C3, и легких цепей κ и λ как правило, обнаруживают при MPGN, ассоциированном с инфекцией вирусом гепатита C. Множество иммуноглобулинов и белков комплемента (IgG, IgM, IgA, C1q, C3, и легкие цепи κ и λ) также наблюдают при MPGN, ассоциированном с аутоиммунными заболеваниями. Однако, монотипические иммуноглобулины с рестрикцией по легким цепям κ и λ наблюдают при MPGN, ассоциированном с моноклональной гаммопатией. Опосредованный иммунными комплексами MPGN считают включающим большинство случаев MPGN типов I и III, в соответствии с более старой классификацией, при этом, электронная микроскопия, как правило, выявляет мезангиальные и субэндотелиальные отложения и, в некоторых случаях, внутримембранные и субэпителиальные отложения.

Случаи MPGN, в которых присутствует явное окрашивание гломерулярного C3 в отсутствие или с очень малым количеством иммуноглобулинов, считают «опосредованным компонентом MPGN» и также обозначают как «C3-гломерулопатию» (также известную как «C3G»). C3G является менее распространенным, чем опосредованный иммунными комплексами MPGN, имеет встречаемость приблизительно 1-2 случаев на миллион населения, и его далее подразделяют на основании качества отложения, наблюдаемых в гломерулах при электронной микроскопии. DDD диагностируют в случаях с отличительными высокоэлектронноплотными осmioфильными отложениями, которые, как правило, обнаруживают в гломерулярной базальной мембране (GBM). Эти отложения распространяются на центральную часть GBM, но могут также затрагивать субэндотелиальную и субэпителиальную область. Глобулярные отложения видимы в мезангии, и у приблизительно половины пациентов с DDD, видимы также в боуменовской капсуле и тубулярной базальной мембране.

Случаи C3G, в которых отсутствуют электроноплотные отложения DDD, называют «C3-гломерулонефритом». При C3-гломерулонефрите, отложения имеют субэндотелиальную и иногда, субэпителиальную и внутримембранную локализацию, морфологические характеристики, близко напоминающие MPGN типов I и III. Таким образом, за исключением DDD, по электронной микроскопии невозможно различить опосредованный иммунными комплексами MPGN и C3G.

Однако, по иммунофлуоресцентной микроскопии невозможно всегда подтверждать диагноз, поскольку иммуноглобулины могут присутствовать в гломерулах пациентов с

C3G. Небольшие количества иммуноглобулина могут захватываться в областях склероза или в подоцитах пациентов с протеинурическими гломерулярными заболеваниями, и приблизительно у трети пациентов с DDD присутствует гломерулярное окрашивание IgG. Таким образом, последующая более широкая классификация C3G, предложенная в недавнем консенсусном докладе, предполагает включение всех случаев, имеющих доминирующее окрашивание C3 по иммунофлуоресцентной микроскопии, на 2 или более порядков величины больше, чем у других способных к иммунной реакции веществ (с использованием шкалы 0-3). Даже по этой более широкой классификации, значительная доля (20%) пациентов с DDD не могут быть классифицированы, как имеющие C3G. И наоборот, изолированное окрашивание C3 при иммунофлуоресцентной микроскопии можно наблюдать в случаях постинфекционного гломерулонефрита. Таким образом, задача классификации MPGN еще не полностью решена (см., Marina Noris, et al., American Journal of Kidney Diseases, Volume 66, Issue 2, August 2015, Pages 359-375).

Высокая изменчивость клинического проявления и течения, вероятно, вызвана различиями в патогенезе заболевания, гистологическом повреждении почки, и времени постановки диагноза (основанного на биопсии почки) относительно клинического течения.

II. Антитела против C5

Антитела против C5, описанные в настоящем описании, связывают компонент комплемента C5 (например, C5 человека) и ингибируют расщепление C5 на фрагменты C5a и C5b. Антитела против C5 (или происходящие из них домены VH/VL), пригодные для использования по изобретению, можно получать с использованием способов, хорошо известных в данной области. Альтернативно, можно использовать известные в данной области антитела против C5. Можно использовать также антитела, конкурирующие с любым из этих известных в данной области антител за связывание с C5.

Термин «антитело» описывает полипептиды, содержащие по меньшей мере один происходящий из антитела антигенсвязывающий участок (например, область VH/VL или Fv, или CDR). Антитела включают известные формы антител. Например, антитело может представлять собой человеческое антитело, гуманизированное антитело, биспецифическое антитело или химерное антитело. Антитело также может представлять собой Fab, Fab'2, ScFv, SMIP, Affibody®, нанотело или доменное антитело. Антитело может также принадлежать к любому из следующих изотипов: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgAsec, IgD и IgE. Антитело может представлять собой природное антитело или может представлять собой антитело, которое было изменено (например, посредством мутации, делеции, замены, конъюгации с не относящейся к антителу группой). Например, антитело может включать один или несколько вариантов аминокислот (по сравнению с природным антителом), которые изменяют свойство (например, функциональное свойство) антитела. Например, в данной области известно множество таких изменений, влияющих, например, на время полужизни, эффекторную функцию и/или иммунные ответы пациента на антитело. Термин антитело включает также искусственные полипептидные конструкции,

содержащие по меньшей мере один происходящий из антитела антигенсвязывающий участок.

Иллюстративным антителом против C5 является экулизумаб, содержащий тяжелые и легкие цепи, имеющие последовательности, показанные в SEQ ID NO: 10 и 11, соответственно, или их антигенсвязывающие фрагменты и варианты. Экулизумаб (также известный как Soliris®) описан в Патенте США No: 6355245, объяснение или содержание которого приведено в настоящем описании посредством ссылки. Экулизумаб представляет собой гуманизированное моноклональное антитело, которое является ингибитором терминального комплекса комплемента.

В других вариантах осуществления, антитело содержит CDR или переменные области тяжелой и легкой цепи из экулизумаба. Соответственно, в одном варианте осуществления, антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VH из экулизумаба, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VL из экулизумаба, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO: 8. В другом варианте осуществления, антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, имеющие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, имеющие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно. В другом варианте осуществления, антитело содержит области VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8, соответственно.

Другим иллюстративным антителом против C5 является антитело BNJ441, содержащее тяжелые и легкие цепи, имеющие последовательности, показанные в SEQ ID NO:14 и 11, соответственно, или их антигенсвязывающие фрагменты и варианты. BNJ441 (также известное как ALXN1210) описано в PCT/US2015/019225 и Патенте США No. 9079949, объяснение или содержание которых приведено в настоящем описании посредством ссылки. BNJ441 представляет собой гуманизированное моноклональное антитело, структурно родственное экулизумабу (Soliris®). BNJ441 избирательно связывает белок C5 комплемента человека, ингибируя его расщепление до C5a и C5b в ходе активации комплемента. Это ингибирование предотвращает высвобождение медиатора воспаления C5a и формирование цитолитического порообразующего мембраноатакующего комплекса C5b-9, в то же время сохраняя проксимальные или ранние компоненты активации комплемента (например, C3 и C3b), необходимые для опсонизации микроорганизмов и выведения иммунных комплексов.

В других вариантах осуществления, антитело содержит CDR или переменные области тяжелой и легкой цепи из BNJ441. Соответственно, в одном варианте осуществления, антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VH из BNJ441, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:12, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VL из BNJ441, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:8. В другом варианте осуществления, антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, имеющие последовательности, указанные в SEQ ID NO:19, 18 и 3,

соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, имеющие последовательности, указанные в SEQ ID NO:4, 5 и 6, соответственно. В другом варианте осуществления, антитело содержит области VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO:12 и SEQ ID NO:8, соответственно.

Другим иллюстративным антителом против C5 является антитело BNJ421, содержащее тяжелые и легкие цепи, имеющие последовательности, показанные в SEQ ID NO:20 и 11, соответственно, или их антигенсвязывающие фрагменты и варианты. BNJ421 (также известное как ALXN1211) описано в PCT/US2015/019225 и Патенте США No.:9079949, объяснение или содержание которых приведено в настоящем описании посредством ссылки.

В других вариантах осуществления, антитело содержит CDR или переменные области тяжелой и легкой цепи из BNJ421. Соответственно, в одном варианте осуществления, антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VH из BNJ421, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:12, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VL из BNJ421, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:8. В другом варианте осуществления, антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, имеющие последовательности, указанные в SEQ ID NO:19, 18 и 3, соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, имеющие последовательности, указанные в SEQ ID NO:4, 5 и 6, соответственно. В другом варианте осуществления, антитело содержит области VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO:12 и SEQ ID NO:8, соответственно.

Точные границы CDR определены по-разному, в соответствии с различными способами. В некоторых вариантах осуществления, положения CDR или каркасных областей внутри переменного домена легкой или тяжелой цепи могут являться такими, как определено в Kabat et al. [(1991) «Sequences of Proteins of Immunological Interest». NIH Publication No. 91-3242, U.S. Department of Health and Human Services, Bethesda, MD]. В таких случаях, CDR могут быть обозначены как «CDR по Kabat» (например, «LCDR2 по Kabat» или «HCDR1 по Kabat»). В некоторых вариантах осуществления, положения CDR переменной области легкой или тяжелой цепи могут являться такими, как определено в Chothia et al. (1989) *Nature* 342:877-883. Соответственно, эти области могут быть обозначены как «CDR по Chothia» (например, «LCDR2 по Chothia» или «HCDR3 по Chothia»). В некоторых вариантах осуществления, положения CDR переменных областей легкой и тяжелой цепи могут являться такими, как определено по комбинированному определению Kabat-Chothia. В таких вариантах осуществления, эти области могут быть обозначены как «CDR по комбинированному определению Kabat-Chothia». В Thomas et al. [(1996) *Mol Immunol* 33(17/18):1389-1401] приведены примеры идентификации границ CDR, в соответствии с определениями по Kabat и Chothia.

Способы определения того, связывает ли антитело белковый антиген, и/или определения аффинности антитела для белкового антигена известны в данной области. Например, связывание антитела с белковым антигеном можно детектировать и/или

оценивать количественно с использованием множества способов, таких как, но без ограничения, Вестерн-блоттинг, дот-блоттинг, способ поверхностного плазмонного резонанса (SPR) (например, с использованием системы BIAcore; Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden и Piscataway, N.J.) или твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA). См., например, Benny K. C. Lo (2004) «Antibody Engineering: Methods and Protocols», Humana Press (ISBN: 1588290921); John et al. (1993) *J Immunol Meth* **160**:191-198; Jonsson et al. (1993) *Ann Biol Clin* **51**:19-26; и Jonsson et al. (1991) *Biotechniques* **11**:620-627.

В одном варианте осуществления, антитело конкурирует за связывание и/или связывается с тем же самым эпитопом на C5, что и антитела, описанные в настоящем описании. Термин «связывается с тем же самым эпитопом», применительно к двум или более антителам, означает, что антитела связываются с одним и тем же фрагментом из аминокислотных остатков, как определено посредством данного способа. Способы определения того, действительно ли антитела связываются с «тем же самым эпитопом на C5», что и антитела, описанные в настоящем описании, включают, например, такие способы эпитопного картирования, как рентгенографические анализы кристаллов комплексов антиген:антитело, обеспечивающие атомное разрешение эпитопа, и масс-спектрометрия с водородно/дейтериевым обменом (HDX-MS). Другие способы мониторируют связывание антитела с пептидными фрагментами антигена или мутантными вариантами антигена, где потерю связывания из-за модификации аминокислотного остатка в последовательности антигена часто рассматривают как показатель компонента эпитопа. Кроме того, можно также использовать компьютерные комбинаторные способы эпитопного картирования. Эти способы основаны на способности представляющего интерес антитела к аффинному выделению специфических коротких пептидов из комбинаторных библиотек фагового дисплея пептидов. Ожидают, что антитела, имеющие одинаковые последовательности VH и VL или одинаковые последовательности CDR1, 2 и 3, связывают один и тот же эпитоп.

Антитела, которые «конкурируют с другим антителом за связывание с мишенью», относятся к антителам, которые ингибируют (частично или полностью) связывание другого антитела с мишенью. Действительно ли два антитела конкурируют друг с другом за связывание с мишенью, т.е., действительно ли и до какой степени одно антитело ингибирует связывание другого антитела с мишенью, можно определять с использованием известных экспериментов по конкуренции. В конкретных вариантах осуществления, антитело конкурирует с другим антителом и ингибирует связывание другого антитела с мишенью по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100%. Уровень ингибирования или конкуренции может являться различным, в зависимости от того, какое антитело является «блокирующим антителом» (т.е., холодным антителом, которое сначала инкубируют с мишенью). Конкурирующие антитела связывают тот же самый эпитоп, перекрывающийся эпитоп или соседние эпитопы (например, как доказано по стерическим затруднениям).

Антитела против C5 или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в настоящем описании, используемые в способах, описанных в настоящем описании, можно получать с использованием множества известных в данной области способов.

Моноклональные антитела можно получать посредством различных способов, известных специалисту в данной области. Кратко, клетки селезенки от животного, иммунизированного желательным антигеном, immortalizуют, обычно посредством слияния с клеткой миеломы (см., Kohler & Milstein, Eur. J. Immunol. 6: 511-519 (1976)). Альтернативные способы immortalизации включают трансформацию вирусом Эпштейна-Барр, онкогенами или ретровирусами, или другие способы, хорошо известные в данной области. Колонии, возникающие из отдельных immortalизованных клеток, подвергают скринингу по продукции антител с желательной специфичностью и аффинностью для антигена, и выход моноклональных антител, продуцированных такими клетками, можно увеличивать посредством различных способов, включая инъекцию в брюшную полость позвоночного хозяина. Альтернативно, можно выделять последовательности ДНК, кодирующие моноклональное антитело или его связывающий фрагмент, посредством скрининга библиотеки ДНК из В-клеток человека, в соответствии с общим способом, описанным в Huse, et al., Science 246: 1275-1281 (1989).

III. Композиции

Настоящее изобретение относится также к композициям, содержащим антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент. В одном варианте осуществления, композиция содержит антитело, содержащее домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VH из экулизумаба, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VL из экулизумаба, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO: 8. В другом варианте осуществления, антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, имеющие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, имеющие последовательности, указанные в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно. В другом варианте осуществления, антитело содержит области VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8, соответственно.

В другом варианте осуществления, антитело содержит CDR или переменные области тяжелой и легкой цепи из BNJ441. В другом варианте осуществления, антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VH из BNJ441, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:12, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VL из BNJ441, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:8. В другом варианте осуществления, антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, имеющие последовательности, указанные в SEQ ID NO:19, 18 и 3, соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, имеющие последовательности, указанные в SEQ ID NO:4, 5 и 6, соответственно. В другом варианте осуществления, антитело содержит области VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO:12 и SEQ ID NO:8, соответственно.

В другом варианте осуществления, антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VH из BNJ421, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:12, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 области VL из BNJ421, имеющие последовательность, указанную в SEQ ID NO:8. В другом варианте осуществления, антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, имеющие последовательности, указанные в SEQ ID NO:19, 18 и 3, соответственно, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, имеющие последовательности, указанные в SEQ ID NO:4, 5 и 6, соответственно. В другом варианте осуществления, антитело содержит области VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, указанные в SEQ ID NO:12 и SEQ ID NO:8, соответственно.

Композиции можно составлять в форме фармацевтического раствора, например, для введения субъекту для лечения или предотвращения ассоциированного с компонентом нарушения. Фармацевтические композиции, как правило, включают фармацевтически приемлемый носитель. В рамках изобретения, «фармацевтически приемлемый носитель» обозначает и включает все без исключения растворители, диспергирующие среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые средства, изотонические и замедляющие абсорбцию средства, и т.п., которые являются физиологически совместимыми. Композиции могут включать фармацевтически приемлемую соль, например, кислотно-аддитивную соль или основно-аддитивную соль, сахара, углеводы, полиолы и/или модификаторы тоничности.

Композиции можно составлять в соответствии со стандартными способами. Получение фармацевтических составов является хорошо развитой областью, и дополнительно описано, например, в Gennaro (2000) «Remington: The Science and Practice of Pharmacy», 20th Edition, Lippincott, Williams & Wilkins (ISBN: 0683306472); Ansel et al. (1999) «Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems», 7th Edition, Lippincott Williams & Wilkins Publishers (ISBN: 0683305727); и Kibbe (2000) «Handbook of Pharmaceutical Excipients American Pharmaceutical Association», 3rd Edition (ISBN: 091733096X). В некоторых вариантах осуществления, композицию можно составлять, например, в форме забуференного раствора в подходящей концентрации и пригодного для хранения при 2-8°C (например, 4°C). В некоторых вариантах осуществления, композицию можно составлять для хранения при температуре ниже 0°C (например, -20°C или -80°C). В некоторых вариантах осуществления, композицию можно составлять для хранения в течение вплоть до 2 лет (например, одного месяца, двух месяцев, трех месяцев, четырех месяцев, пяти месяцев, шести месяцев, семи месяцев, восьми месяцев, девяти месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 1 года, 1½ лет или 2 лет) при 2-8°C (например, 4°C). Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, композиции, описанные в настоящем описании, являются стабильными при хранении в течение по меньшей мере 1 года при 2-8°C (например, 4°C).

Фармацевтические композиции могут находиться во множестве форм. Эти формы включают, например, жидкие, полутвердые и твердые лекарственные формы, такие как жидкие растворы (например, пригодные для инъекции и инфузии растворы), дисперсии

или суспензии, таблетки, пилюли, порошки, липосомы и суппозитории. Предпочтительная форма зависит, частично, от намеченного способа введения и терапевтического применения. Например, композиции, содержащие композицию, предназначенную для системной или местной доставки, могут находиться в форме пригодных для инъекции или инфузии растворов. Соответственно, композиции можно составлять для введения парентеральным способом (например, посредством внутривенной, подкожной, внутривнутрибрюшинной или внутримышечной инъекции). «Парентеральное введение», «вводимый парентерально» и другие грамматически эквивалентные фразы, в рамках изобретения, относятся к способам введения, отличным от энтерального и местного введения, обычно посредством инъекции, и включают, без ограничения, внутривенную, интраназальную, внутриглазную, легочную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, интракапсулярную, внутриорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, внутрилегочную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, эпидуральную, интрацеребральную, интракраниальную, интракаротидную и интрастернальную инъекцию и инфузию.

IV. Способы лечения

Настоящее изобретение относится к способам лечения MPGN у пациентов-людей (например, взрослых пациентов-людей и пациентов-людей детского возраста), включающим введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента в соответствии с конкретным клиническим режимом дозирования (т.е., при конкретном уровне дозы и в соответствии с конкретным расписанием дозирования). В одном варианте осуществления, MPGN представляет собой «опосредованный иммунными комплексами MPGN» (опосредованный IC MPGN). В другом варианте осуществления, MPGN представляет собой «опосредованный комплементом MPGN» (например, «C3-гломерулопатию» (также известную как «C3G»)). В одном варианте осуществления, C3-гломерулопатия представляет собой болезнь плотного осадка (DDD) или C3-гломерулонефрит.

Термины «лечить», «лечение» и «обработка», в рамках изобретения, относятся к терапевтическим способам, описанным в настоящем описании. В способах лечения используют введение человеку комбинации, описанной в настоящем описании, для излечения, задержки, уменьшения тяжести или облегчения одного или нескольких симптомов MPGN, или для продления выживаемости субъекта дольше ожидаемой в отсутствие такого лечения.

В рамках изобретения, «эффективное лечение» относится к лечению, оказывающему благоприятный эффект, например, облегчение по меньшей мере одного симптома заболевания или нарушения. Благоприятный эффект может принимать форму улучшения по сравнению с исходной точкой, т.е., улучшения по сравнению с измерением или наблюдением, сделанным до начала терапии в соответствии со способом. Эффективное лечение может относиться к облегчению по меньшей мере одного симптома

MPGN (например, протеинурии, гематурии, изменения психического состояния (например, уменьшения внимательности или уменьшения концентрации), мутной, темной или пенистой мочи, уменьшения объема мочи, уменьшения уровней в сыворотке компонентов комплемента C3 или C4, увеличения уровней sC5b9 и/или отека любой части тела). Например, лечение может оказывать по меньшей мере один терапевтический эффект, выбранный из группы, состоящей из уменьшения или прекращения протеинурии и/или гематурии, полной или частичной ремиссии MPGN, уменьшения отека, улучшения функции почек и параметров почечной гемодинамики, и/или исходных уровней C3, C4 и/или sC5b9.

Термин «эффективное количество» относится к количеству соединения, обеспечивающему желательный биологический, терапевтический и/или профилактический результат. Этот результат может представлять собой уменьшение, облегчение, смягчение, снижение, задержку и/или ослабление одного или нескольких из признаков, симптомов или причин заболевания, или любое другое желательное изменение биологической системы. В одном примере, «эффективное количество» представляет собой количество антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, как клинически доказано, облегчающего по меньшей мере один симптом MPGN. Эффективное количество можно вводить за одно или несколько введений.

В одном варианте осуществления, пациент представляет собой взрослого пациента, как определено, имеющего подтвержденный по биопсии MPGN, выведение креатинина более 20 мл/мин на 1,73 м², и/или 24-часовую протеинурию, превышающую 3,5 г. В другом варианте осуществления, пациент представляет собой пациента детского возраста, как определено, имеющего подтвержденный по биопсии MPGN, выведение креатинина более 20 мл/мин на 1,73 м², и/или 24-часовую протеинурию, превышающую 40 мг/час/м² (или превышение 2 мг белка/мг креатинина в образцах разовой порции мочи). В следующем варианте осуществления, пациент (например, пациент детского возраста или взрослый пациент), как определено, имеет также постоянно низкие уровни C3 по меньшей мере в двух последовательных определениях и/или постоянно высокие уровни sC5b9 (>1000 нг/мл) по меньшей мере в двух предшествующих последовательных определениях.

До лечения с использованием антител против C5 или их антигенсвязывающих фрагментов, пациент может иметь одну или несколько конкретных характеристик, включая, но без ограничения, «протеинурию» (просачивание белка из крови в мочу), «гематурию» (кровь в моче), изменения психического состояния (например, уменьшение внимательности или уменьшение концентрации), мутную, темную или пенистую мочу, уменьшение объема мочи, уменьшение уровней в сыворотке компонентов комплемента C3 или C4, увеличение уровней sC5b9 (например, >1000 мг/мл), и/или отек любой части тела.

В одном аспекте, настоящее изобретение относится к способам лечения пациента-человека с MPGN, включающим введение пациенту эффективного количества антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента. В одном варианте осуществления,

доза антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, представляет собой постоянную фиксированную дозу. Например, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент можно вводить в фиксированной дозе 300 мг, 600 мг, 900 мг или 1200 мг. В конкретных вариантах осуществления, режимы дозирования корректируют для обеспечения оптимального желательного ответа (например, эффективного ответа).

В одном варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент (например, экулизумаб) вводят взрослому пациенту (а) еженедельно в дозе 900 мг в течение четырех недель и (b) один раз в каждые 14 ± 2 суток (например, приблизительно две недели) после этого в дозе 1200 мг. В другом варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент (например, экулизумаб) вводят взрослому пациенту в соответствии с циклом введения, включающим (а) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где: (а) фаза индукции включает период четыре недели, где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе 900 мг один раз в неделю; и (b) во время фазы поддержания, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят один раз в дозе 1200 мг на пятой неделе цикла введения, с последующими 1200 мг каждые 14 ± 2 суток после этого.

В другом варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент (например, экулизумаб) вводят пациенту детского возраста в соответствии с циклом введения, включающим (а) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где:

(а) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы индукции в дозе:

1. 900 мг один раз в неделю в течение четырех недель для пациента ≥ 40 кг;
2. 600 мг один раз в неделю в течение двух недель для пациента $30 \text{ кг} < 40 \text{ кг}$;
3. 600 мг один раз в неделю в течение двух недель для пациента $20 \text{ кг} < 30 \text{ кг}$;
4. 600 мг один раз в неделю в течение одной недели для пациента $10 \text{ кг} < 20 \text{ кг}$;
5. 300 мг один раз в неделю в течение одной недели для пациента $5 \text{ кг} < 10 \text{ кг}$; и

(b) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы поддержания в дозе:

1. 1200 мг на пятой неделе цикла введения, с последующими 1200 мг каждые две недели после этого, для пациента ≥ 40 кг;
2. 900 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 900 мг каждые две недели после этого, для пациента $30 \text{ кг} < 40 \text{ кг}$;
3. 600 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 600 мг каждые две недели после этого, для пациента $20 \text{ кг} < 30 \text{ кг}$;
4. 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые две недели после этого, для пациента $10 \text{ кг} < 20 \text{ кг}$; или
5. 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые три

недели после этого, для пациента 5 кг - < 10 кг.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение относится к способам лечения пациента-человека детского возраста с MPGN, включающим введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно, где способ включает цикл введения, включающий (а) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе:

а) 900 мг один раз в неделю в течение четырех недель во время фазы индукции, 1200 мг на пятой неделе цикла введения, с последующими 1200 мг каждые две недели после этого во время фазы поддержания, для пациента ≥ 40 кг;

б) 600 мг один раз в неделю в течение двух недель во время фазы индукции, 900 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 900 мг каждые две недели после этого во время фазы поддержания, для пациента 30 кг - < 40 кг;

с) 600 мг один раз в неделю в течение двух недель во время фазы индукции, 600 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 600 мг каждые две недели после этого во время фазы поддержания, для пациента 20 кг - < 30 кг;

д) 600 мг один раз в неделю в течение одной недели во время фазы индукции, 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые две недели после этого во время фазы поддержания, для пациента 10 кг - < 20 кг;

е) 300 мг один раз в неделю в течение одной недели во время фазы индукции, 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые три недели после этого во время фазы поддержания, для пациента 5 кг - < 10 кг.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение относится к способам лечения пациента-человека детского возраста ≥ 40 кг с MPGN, включающим введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно, где способ включает цикл введения, включающий (а) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где:

(а) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы индукции в дозе 900 мг один раз в неделю в течение четырех недель; и

(b) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы поддержания в дозе 1200 мг на пятой неделе цикла введения, с последующими 1200 мг каждые две недели после этого.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение относится к способам лечения пациента-человека детского возраста 30 кг - < 40 кг с MPGN, включающим введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ

ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно, где способ включает цикл введения, включающий (а) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где:

(а) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы индукции в дозе 600 мг один раз в неделю в течение двух недель; и

(b) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы поддержания в дозе 900 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 900 мг каждые две недели после этого.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение относится к способам лечения пациента-человека детского возраста 20 кг - < 30 кг с MPGN, включающим введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно, где способ включает цикл введения, включающий (а) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где:

(а) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы индукции в дозе 600 мг один раз в неделю в течение двух недель; и

(b) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы поддержания в дозе 600 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 600 мг каждые две недели после этого.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение относится к способам лечения пациента-человека детского возраста 10 кг - < 20 кг с MPGN, включающим введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно, где способ включает цикл введения, включающий (а) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где:

(а) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы индукции в дозе 600 мг один раз в неделю в течение одной недели; и

(b) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы поддержания в дозе 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые две недели после этого.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение относится к способам лечения пациента-человека детского возраста 5 кг - < 10 кг с MPGN, включающим введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно, где способ включает цикл введения, включающий (а) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где:

(а) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время

фазы индукции в дозе 300 мг один раз в неделю в течение одной недели; и

(b) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы поддержания в дозе 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые три недели после этого.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение относится к способу лечения взрослого пациента-человека с MPGN, включающему введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно,

где пациент, как определено, имеет подтвержденный по биопсии MPGN, выведение креатинина более 20 мл/мин на 1,73 м² и/или 24-часовую протеинурию, превышающую 3,5 г, у взрослых, и

где способ включает цикл введения, включающий (a) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где:

(a) фаза индукции включает период четыре недели, где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе 900 мг один раз в неделю; и

(b) во время фазы поддержания, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят один раз в дозе 1200 мг на пятой неделе цикла введения, с последующими 1200 мг каждые 14±2 суток после этого.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение относится к способу лечения пациента-человека детского возраста с MPGN, включающему введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO:1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO:4, 5 и 6, соответственно,

где пациент, как определено, имеет подтвержденный по биопсии MPGN, выведение креатинина более 20 мл/мин на 1,73 м², и/или 24-часовую протеинурию, превышающую 40 мг/час/м², у детей (или превышение 2 мг белка/мг креатинина в образцах разовой порции мочи у детей), и

где способ включает цикл введения, включающий (a) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где:

(a) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы индукции в дозе:

1. 900 мг один раз в неделю в течение четырех недель для пациента ≥ 40 кг;
2. 600 мг один раз в неделю в течение двух недель для пациента 30 кг - < 40 кг;
3. 600 мг один раз в неделю в течение двух недель для пациента 20 кг - < 30 кг;
4. 600 мг один раз в неделю в течение одной недели для пациента 10 кг - < 20 кг;
5. 300 мг один раз в неделю в течение одной недели для пациента 5 кг - < 10 кг; и

(b) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время

фазы поддержания в дозе:

1. 1200 мг на пятой неделе цикла введения, с последующими 1200 мг каждые две недели после этого, для пациента ≥ 40 кг;
2. 900 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 900 мг каждые две недели после этого, для пациента $30 \text{ кг} - < 40 \text{ кг}$;
3. 600 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 600 мг каждые две недели после этого, для пациента $20 \text{ кг} - < 30 \text{ кг}$;
4. 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые две недели после этого, для пациента $10 \text{ кг} - < 20 \text{ кг}$; или
5. 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые три недели после этого, для пациента $5 \text{ кг} - < 10 \text{ кг}$.

В другом варианте осуществления, 2400 мг или 3000 мг антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента (например, BNJ441) вводят пациенту массой $\geq 40 - < 60$ кг. В другом варианте осуществления, 2700 мг или 3300 мг антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента (например, BNJ441) вводят пациенту массой $\geq 60 - < 100$ кг. В другом варианте осуществления, 3000 мг или 3600 мг антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента (например, BNJ441) вводят пациенту массой ≥ 100 кг.

В другом варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент (например, BNJ441) вводят в течение одного или нескольких циклов введения. В одном варианте осуществления, цикл введения составляет 26 недель. В одном варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент (например, BNJ441) вводят один раз на сутки 1 цикла введения, один раз на сутки 15 цикла введения, и каждые восемь недель после этого.

В другом варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент (например, BNJ441) вводят:

(а) один раз на сутки 1 цикла введения в дозе: 2400 мг для пациента массой $\geq 40 - < 60$ кг, 2700 мг для пациента массой $\geq 60 - < 100$ кг или 3000 мг для пациента массой ≥ 100 кг; и

(б) на сутки 15 цикла введения и каждые восемь недель после этого в дозе 3000 мг для пациента массой $\geq 40 - < 60$ кг, 3300 мг для пациента массой $\geq 60 - < 100$ кг или 3600 мг для пациента массой ≥ 100 кг.

В другом варианте осуществления, настоящее изобретение относится к способу лечения взрослого пациента-человека с MPGN, включающему введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO:19, 18 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO:4, 5 и 6, соответственно,

где пациент, как определено, имеет подтвержденный по биопсии MPGN, выведение креатинина более 20 мл/мин на 1,73 м², и/или 24-часовую протеинурию, превышающую 3,5 г, и

где способ включает цикл введения, и где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят:

(a) один раз на сутки 1 цикла введения в дозе: 2400 мг для пациента массой ≥ 40 - < 60 кг, 2700 мг для пациента массой ≥ 60 - < 100 кг или 3000 мг для пациента массой ≥ 100 кг; и

(b) на сутки 15 цикла введения и каждые восемь недель после этого в дозе 3000 мг для пациента массой ≥ 40 - < 60 кг, 3300 мг для пациента массой ≥ 60 - < 100 кг или 3600 мг для пациента массой ≥ 100 кг.

В другом варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в течение по меньшей мере 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 или 60 недель. В другом варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в течение по меньшей мере одного, двух, трех, четырех, пяти или шести лет.

Антитела против C5 или их антигенсвязывающие фрагменты, можно вводить пациенту любыми пригодными способами. В одном варианте осуществления, антитела составляют для внутривенного введения. В одном варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят взрослому пациенту-человеку посредством внутривенной инфузии в течение периода от 25 минут до 45 минут. В другом варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят взрослому пациенту-человеку посредством внутривенной инфузии в течение периода, не превышающего двух часов. В другом варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту-человеку детского возраста в возрасте от 12 лет до не более 18 лет посредством внутривенной инфузии в течение периода, не превышающего двух часов. В другом варианте осуществления, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту-человеку детского возраста в возрасте менее 12 лет посредством внутривенной инфузии в течение периода, не превышающего четырех часов.

Кроме того, пациенту можно вводить одно или несколько подходящих лекарственных средств, до введения антител против C5 или их антигенсвязывающих фрагментов. Например, в одном варианте осуществления, пациенту вводят противоменингококковую вакцину до лечения с использованием антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента. В другом варианте осуществления, пациенту вводят один или несколько антибиотиков до лечения с использованием антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента.

V. Исходы

Настоящее изобретение относится к способам лечения MPGN у пациента-человека, включающим введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента. Симптомы MPGN включают, но без ограничения, протеинурию, гематурию, изменения психического состояния (например, уменьшение внимательности или

уменьшение концентрации), мутную, темную или пенистую мочу, уменьшение объема мочи, уменьшение уровней в сыворотке компонентов комплемента C3 или C4, увеличение уровней sC5b9 (например, >1000 мг/мл), и/или отек любой части тела.

Определено, что пациенты (например, взрослые пациенты), подвергаемые лечению в соответствии с описанными способами, имеют подтвержденный по биопсии MPGN, выведение креатинина более 20 мл/мин на 1,73 м² и/или 24-часовую протеинурию, превышающую 3,5 г. Определено, что пациенты детского возраста, подвергаемые лечению в соответствии со способами, описанными в настоящем описании, имеют подтвержденный по биопсии MPGN, выведение креатинина более 20 мл/мин на 1,73 м² и/или 24-часовую протеинурию, превышающую 40 мг/час/м² (или превышение 2 мг белка/мг креатинина в образцах разовой порции мочи). В одном варианте осуществления, пациент (например, пациент детского возраста или взрослый пациент), как определено, имеет также постоянно низкие уровни C3 по меньшей мере в двух последовательных определениях и/или постоянно высокие уровни sC5b9 (>1000 нг/мл) по меньшей мере в двух предшествующих последовательных определениях.

Пациенты, подвергнутые лечению в соответствии со способами, описанными в настоящем описании, предпочтительно, испытывают улучшение по меньшей мере одного признака MPGN. Например, лечение может оказывать по меньшей мере один терапевтический эффект, выбранный из группы, состоящей из уменьшения или прекращения протеинурии и/или гематурии, полной или частичной ремиссии MPGN, уменьшения отека, улучшения функции почек и параметров почечной гемодинамики, и/или исходных уровней C3, C4, и/или sC5b9.

В одном варианте осуществления, лечение уменьшает 24-часовую протеинурию на неделе 4 (через 1 месяц), неделе 8 (через 2 месяца), неделе 12 (через 3 месяца), неделе 16 (через 4 месяца), неделе 20 (через 5 месяцев), неделе 24 (через 6 месяцев), неделе 28 (через 7 месяцев), неделе 32 (через 8 месяцев), неделе 36 (через 9 месяцев), неделе 40 (через 10 месяцев), неделе 44 (через 11 месяцев) или неделе 48 (через 12 месяцев), по сравнению с исходной. В конкретном варианте осуществления, лечение уменьшает 24-часовую протеинурию на неделе 24 (через 6 месяцев), по сравнению с исходной. В другом конкретном варианте осуществления, лечение уменьшает 24-часовую протеинурию на неделе 48 (через 12 месяцев), по сравнению с исходной. В другом варианте осуществления, лечение уменьшает протеинурию приблизительно на 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или более, по сравнению с отсутствием лечения.

В другом варианте осуществления, лечение приводит к полной или частичной ремиссии MPGN. В другом варианте осуществления, лечение обеспечивает сдвиг по направлению к нормальным уровням соотношения альбумина/креатинина в моче, сывороточного креатинина, выведения креатинина, общего уровня сывороточных белков, уровней сывороточного альбумина, LDL-, HDL-холестерина и триглицеридов, гематокрита и/или концентрации гемоглобина. В другом варианте осуществления, лечение улучшает один или несколько параметров функции почек, выбранных из группы,

состоящей из скорости клубочковой фильтрации (GFR) (например, как определено посредством измерения выведения иогексола из плазмы), фракционного выведения альбумина, IgG, натрия, калия и индекса сопротивления почек (например, как оценено посредством ультразвукового исследования).

VI. Наборы и единичные дозированные формы

Настоящее изобретение относится также к наборам, включающим фармацевтическую композицию, содержащую антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент, такое как экулизумаб, и фармацевтически приемлемый носитель, в терапевтически эффективном количестве, адаптированном для использования в предшествующих способах. Наборы, необязательно, могут также включать инструкции, например, включающие расписания введения, чтобы позволить специалисту-практику в данной области (например, терапевту, медсестре или пациенту) вводить содержащуюся в них композицию, для введения композиции пациенту, имеющему MPGN. Набор может также включать шприц.

Необязательно, наборы включают множество упаковок однократных доз фармацевтических композиций, где каждая содержит эффективное количество антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента для однократного введения в соответствии со способами, представленными выше. Инструменты или устройства, необходимые для введения фармацевтической композиции(композиций), также можно включать в наборы. Например, набор может предоставлять один или несколько предварительно заполненных шприцев, содержащих некоторое количество антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента.

В одном варианте осуществления, набор содержит дозу антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего: последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO:1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO: 4, 5 и 6; и инструкции для использования антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента в любом из способов, описанных в настоящем описании.

В другом варианте осуществления, набор содержит дозу антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO:19, 18 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO:4, 5 и 6; и инструкции для использования антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента в любом из способов, описанных в настоящем описании.

Следующие примеры являются просто иллюстративными, и их не следует рассматривать как ограничивающие объем этого описания каким-либо образом, поскольку множество вариантов и эквивалентов станут очевидными специалистам в данной области при прочтении настоящего описания.

Полное содержание всех ссылок, записей в Genbank, патентов и опубликованных патентных заявок, процитированных на протяжении этой заявки, приведено в настоящем

описании посредством ссылки.

ПРИМЕРЫ

ПРИМЕР 1: «Исследование Eagle»

Исследование фазы II («Исследование Eagle») проводят для исследования эффективности экулизумаба у пациентов с PNH, подтвержденным по биопсии MPGN и нефротическим синдромом.

1. Цели

Первичной целью исследования является оценка того, может ли терапия экулизумабом уменьшать 24-часовую протеинурию, рассматриваемую в качестве непрерывного параметра, через 6 месяцев (на неделе-24) и 12 месяцев (на неделе-48), по сравнению с исходной точкой.

Вторичные цели включают оценку: (1) того, может ли терапия экулизумабом обеспечивать постоянную, либо полную, либо частичную, ремиссию нефротического синдрома (определенную как уменьшение 24-часового выделения белка в моче до $<0,3$ грамм или до $<3,5$ грамм, с по меньшей мере 50% уменьшением от исходного, для взрослых или <40 мг/час/м², по меньшей мере с 50% уменьшением от исходного, для детей, соответственно), (2) эффекта терапии экулизумабом на рецидивы нефротического синдрома, определенные как увеличение 24-часового выделения белка в моче до 3,5 грамм для взрослых или >40 мг/час/м² для детей, после периода полной или частичной ремиссии, (3) эффекта терапии экулизумабом на клинические (массу тела, систолическое и диастолическое кровяное давление) и лабораторные параметры (соотношение альбумина/креатинина в моче, сывороточный креатинин, выведение креатинина, общий уровень сывороточных белков, сывороточный альбумин, LDL-, HDL-холестерин и триглицериды, гематокрит и концентрацию гемоглобина), (4) эффекта терапии экулизумабом на параметры функции почек (скорость клубочковой фильтрации (GFR) по измерению выведения иогексола из плазмы, фракционное выведение альбумина, IgG, натрия, калия, индекс сопротивления почек по оценке посредством ультразвукового исследования), (5) эффекта терапии экулизумабом на маркеры активности комплемента (C3, C4, C3a, C5a, Bb и sC5b9), (6) иммуногистохимических (C3, IgG, C4d, C5b-9), структурных и ультраструктурных изменений, ассоциированных с ремиссией протеинурии у пациентов с доказательством полной или частичной ремиссии нефротического синдрома, (7) профиля безопасности для лечения экулизумабом, (8) стоимости/эффективности исследуемого лечения (9) и оценки биомаркеров, подлежащих тестированию, в случае значимого эффекта лечения на первичную переменную эффективности.

2. Пациенты

Критерии включения являются следующими:

А. Подтвержденный по биопсии первичный MPGN;

В. Выведение креатинина >20 мл/мин на 1,73 м²;

С. 24-часовая протеинурия с постоянным превышением 3,5 г у взрослых или

превышением 40 мг/час/м² у детей (или превышением 2 мг белка/мг креатинина в образцах разовой порции мочи у детей);

D. Постоянно низкие уровни C3 по меньшей мере в двух последовательных определениях;

E. Постоянно высокие уровни sC5b9 (>1000 нг/мл) по меньшей мере в двух предшествующих последовательных

F. определениях; и

G. Письменное информированное согласие (от родителей или опекунов для несовершеннолетних).

Критерии исключения являются следующими:

A. Возраст $\geq$ 75 лет

B. Вторичный MPGN (доказательство инфекции, иммунологического заболевания, включая васкулит, системных заболеваний и пролиферативных нарушений);

C. Доказательство по оценке биопсии почки тяжелых хронических гистологических изменений, при которых с очень малой вероятностью возможно получение преимущества от терапии экулизумабом;

D. Сопутствующая стероидная или иммуносупрессивная терапия;

E. Беременность или кормление грудью;

F. Репродуктивный потенциал в отсутствие эффективной контрацепции;

G. Любое клинически значимое состояние, которое может влиять на завершение участия в исследовании и/или исказить результаты исследования;

H. Неспособность понять потенциальные риски и преимущества исследования; и

I. Ограничение дееспособности.

3. Дизайн исследования

Это пилотное патофизиологическое, проспективное, открытое исследование с последовательными группами. Десять пациентов с первичным MPGN и постоянной протеинурией в нефротическом диапазоне зарегистрированы в исследовании. Для всех этих пациентов, собирали биологические образцы для биохимического и генетического скрининга (включая антитела против регулирующих комплемент белков, мутации в белках комплемента и в регулирующих комплемент белках и аллельные варианты).

После исходной оценки биопсии почек, 24-часового сбора мочи, анализа утренней мочи, общепринятых лабораторных анализов (тестирования маркеров активности комплемента - C3, C4, C3a, C5a, Bb и sC5b9, профиля функции почек, электрофореза белка, электролитов, печеночного профиля, липидного профиля, индекса воспаления, гемохрома и общего анализа крови, тромбоцитов, ферритина, СРК, LDH, глюкозы), скорости клубочковой фильтрации (GFR), и фракционного выведения IgG, альбумина и натрия, ультразвукового исследования с усилителем контрастности, пациентам вводили первую внутривенную инфузию экулизумаба.

Исходные оценки повторяют на неделе 24 (за исключением биопсии почек) и на неделе 48. На неделе 48 биопсию почек проводят только для пациентов с доказательством

полной или частичной ремиссии нефротического синдрома для оценки иммуногистохимических (C3, C4, IgG, C5b-9), структурных и ультраструктурных изменений, ассоциированных с ремиссией протеинурии. Во время фазы индукции (4 недели) параметры безопасности и активность маркеров комплемента измеряют один раз в неделю. Во время фазы поддержания (44 недели) параметры безопасности измеряют один раз в месяц. Дополнительные оценки допускают во всех случаях, когда это кажется клинически целесообразным, в частности, из соображений безопасности. Дополнительные образцы плазмы, сыворотки и мочи собирают в исходной точке, на неделе 2, 4, 12, 24, 36 и 48, для оценки.

Расписание осмотров для исследования является следующим и изображено на фигуре 1:

Осмотр 1 (неделя 0)

Сутки -3:

Исходные данные включают письменное информированное согласие, демографические данные пациента, рост, образ жизни, семейное положение, образование, профессиональный статус, репродуктивный потенциал, семейный анамнез, предшествующие заболевания и предшествующие виды лечения, сертификат о вакцинации против *Neisseria Meningitidis* (проведенной за 15 суток до первой инфузии экулизумаба) и сертификат о вакцинации против *Haemophilus Influenza* (только для детей).

Лабораторные исследования крови включают оценку креатинина, мочевины, натрия, калия, кальция, фосфора, GOT/AST, GPT/ALT, щелочной фосфатазы, гамма-GT, мочевой кислоты, общего уровня холестерина, HDL-холестерина, LDL-холестерина, СРК, глюкозы, триглицеридов, высокочувствительного С-реактивного белка, иммуноглобулина, общего уровня белка, альбумина, электрофореза белка, эритроцита, гематокрита, гемоглобина, тромбоцитов, лейкоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, базофилов, лимфоцитов и моноциты, ферритина, LDH, PT и PTT.

Активность комплемента оценивают по уровням C3, C4, C3a, C5a, Bb и sC5b9.

Проводят тест на беременность по бета-Нсг.

Проводят исследование мочи, включающее общий анализ мочи и креатинин, альбумин, А/С и Р/С. Конкретно, проводят три 24-часовых сбора мочи для оценки натрия, калия, креатинина, мочевины, глюкозы, фосфора, общего уровня белка, альбумина, выведения креатинина, А/С, Р/С, фракционного выведения альбумина, IgG, натрия и калия.

Проводят ЭКГ в 12 отведениях в покое.

Выведение иогексола оценивают по выведению иогексола из плазмы (мл/мин).

Время кровотечения оценивают для оценки биопсии.

Оценивают критерии включения/исключения.

Сутки -2:

Биопсию почек проводят для оценки иммуногистохимических (C3, IgG, C4d, C5b-9), структурных и ультраструктурных изменений.

Сутки -1:

Ультразвуковое исследование проводят для оценки индекса перфузии и сопротивления.

Избранные лабораторные исследования крови включают оценку гемохрома и общий анализ крови, креатинин, мочевины, натрий, калий, GOT/AST и GPT/ALT.

Сутки 0:

Проводят физическое обследование и оценивают массу/жизненно важные функции.

Оценивают критерии включения/исключения.

Вводят экулизумаб.

Сутки 1:

Лабораторное исследование крови включает оценку гемохрома и общего анализа крови, креатинина, мочевины, натрия, калия, GOT/AST и GPT/ALT.

Осмотр 2 (неделя 1) и осмотр 15 (неделя 24)

Проводят физическое обследование и оценивают массу/жизненно важные функции.

Лабораторное исследование крови включает оценку креатинина, мочевины, натрия, калия, кальция, фосфора, GOT/AST, GPT/ALT, щелочной фосфатазы, гамма-GT, мочевой кислоты, общего уровня холестерина, HDL-холестерина, LDL-холестерина, СРК, глюкозы, триглицериды, высокочувствительного С-реактивного белка, иммуноглобулина, общего уровня белка, альбумина, электрофореза белка, эритроцитов, гематокрита, гемоглобина, тромбоцитов, лейкоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, базофилов, лимфоцитов и моноцитов, ферритина, LDH, цистатина С.

Активность комплемента оценивают по уровням C3, C4, C3a, C5a, Bb и sC5b9.

Биомаркеры плазмы и мочи оценивают при осмотре 15.

Ультразвуковое исследование проводят для оценки индекса перфузии и сопротивления.

Проводят исследование мочи, включающее общий анализ мочи и оценку креатинина, альбумина, А/С и Р/С. Конкретно, проводят три 24-часовых сбора мочи для оценки натрия, калия, креатинина, мочевины, глюкозы, фосфора, общего уровня белка, альбумина, выведения креатинина, А/С, Р/С, фракционного выведения альбумина, IgG, натрия и калия.

Выведение иогексола оценивают по выведению иогексола из плазмы (мл/мин).

Вводят экулизумаб.

Осмотр 3 (неделя 2), осмотр 4 (неделя 3)

Проводят физическое обследование и оценивают массу/жизненно важные функции.

Лабораторное исследование крови включает оценку гемохрома и общий анализ крови, креатинин, мочевины, натрий, калий, GOT/AST и GPT/ALT.

Активность комплемента оценивают по уровням C3, C4, C3a, C5a, Bb и sC5b9.

Биомаркеры оценивают при осмотре 3.

Проводят исследование мочи, включающее общий анализ мочи и оценку креатинина, альбумина, А/С и Р/С.

Вводят экулизумаб.

Осмотр 5 (неделя 4), осмотр 7 (неделя 8), осмотр 11 (неделя 16), осмотр 13 (неделя 20), осмотр 17 (неделя 28), осмотр 19 (неделя 32), осмотр 23 (неделя 40), осмотр 25 (неделя 44)

Проводят физическое обследование и оценивают массу/жизненно важные функции.

Лабораторное исследование крови включает оценку креатинина, мочевины, натрия, калия, кальция, фосфора, GOT/AST, GPT/ALT, щелочной фосфатазы, гамма-GT, мочевой кислоты, общего уровня холестерина, HDL-холестерина, LDL-холестерина, СРК, глюкозы, триглицериды, высокочувствительного С-реактивного белка, иммуноглобулина, общего уровня белка, альбумина, электрофореза белка, эритроцитов, гематокрита, гемоглобина, тромбоцитов, лейкоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, базофилов, лимфоцитов и моноцитов, ферритина и LDH.

Биомаркеры оценивают при осмотре 5.

Проводят исследование мочи, и оно включает общий анализ мочи и оценку креатинина, альбумина, А/С и Р/С.

Вводят экулизумаб.

Активность комплемента оценивают по уровням C3, C4, C3a, C5a, Bb и sC5b9 только для осмотра 5 (неделя 4).

Осмотр 6 (неделя 6), осмотр 8 (неделя 10), осмотр 10 (неделя 14), осмотр 12 (неделя 18), осмотр 14 (неделя 22), осмотр 16 (неделя 26), осмотр 18 (неделя 30), осмотр 20 (неделя 34), осмотр 22 (неделя 38), осмотр 24 (неделя 42), осмотр 26 (неделя 46)

Проводят физическое обследование и оценивают массу/жизненно важные функции.

Вводят экулизумаб.

Осмотр 9 (неделя 12), осмотр 21 (неделя 36)

Проводят физическое обследование и оценивают массу/жизненно важные функции.

Лабораторное исследование крови включает оценку креатинина, мочевины, натрия, калия, кальция, фосфора, GOT/AST, GPT/ALT, щелочной фосфатазы, гамма-GT, мочевой кислоты, общего уровня холестерина, HDL-холестерина, LDL-холестерина, СРК, глюкозы, триглицеридов, высокочувствительного С-реактивного белка, иммуноглобулина, общего уровня белка, альбумина, электрофореза белка, эритроцитов, гематокрита, гемоглобина, тромбоцитов, лейкоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, базофилов, лимфоцитов и моноцитов, ферритина и LDH.

Активность комплемента оценивают по уровням C3, C4, C3a, C5a, Bb и sC5b9.

Оценивают биомаркеры.

Проводят исследование мочи, и оно включает общий анализ мочи и оценку креатинина, альбумина, А/С и Р/С. Конкретно, проводят три 24-часовых сбора мочи для оценки натрия, калия, креатинина, мочевины, глюкозы, фосфора, общего уровня белка, альбумина, выведения креатинина, А/С и Р/С.

Вводят экулизумаб.

Осмотр 27 (неделя 48)

Сутки 1:

Проводят физическое обследование и оценивают массу/жизненно важные функции.

Лабораторное исследование крови включает оценку креатинина, мочевины, натрия, калия, кальция, фосфора, GOT/AST, GPT/ALT, щелочной фосфатазы, гамма-GT, мочевой кислоты, общего уровня холестерина, HDL-холестерина, LDL-холестерина, СРК, глюкозы, триглицеридов, высокочувствительного С-реактивного белка, иммуноглобулина, общего уровня белка, альбумина, электрофореза белка, эритроцитов, гематокрита, гемоглобина, тромбоцитов, лейкоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, базофилов, лимфоцитов и моноцитов, ферритина, LDH, PT, PTT и цистатина С.

Активность комплемента оценивают по уровням C3, C4, C3a, C5a, Bb и sC5b9.

Проводят исследование мочи, и оно включает оценку креатинина, альбумина, А/С и Р/С. Конкретно, проводят три 24-часовых сбора мочи для оценки натрия, калия, креатинина, мочевины, глюкозы, фосфора, общего уровня белка, альбумина, выведения креатинина, А/С, Р/С, фракционного выведения альбумина, IgG, натрия и калия.

Выведение иогексола оценивают по выведению иогексола из плазмы (мл/мин).

Время кровотечения оценивают для оценки биопсии.

Сутки 2:

Биопсию почек проводят для оценки иммуногистохимических (C3, IgG, C4d, C5b-9), структурных и ультраструктурных изменений (только для пациентов с доказательством полной или частичной ремиссии нефротического синдрома).

Ультразвуковое исследование проводят для оценки индекса перфузии и сопротивления.

По окончании первого года пациентов отслеживают каждые шесть месяцев. Исследования включают:

- Физическое обследование/массу/жизненно важные функции;
- Лабораторные исследования крови: креатинин, мочевина, натрий, калий, кальций, фосфор, GOT/AST, GPT/ALT, щелочная фосфатаза, гамма-GT, мочевая кислота, общий уровень холестерина, HDL-холестерин, LDL-холестерин, СРК, глюкоза, триглицериды, высокочувствительный С-реактивный белок, иммуноглобулин, общий уровень белка, альбумин, электрофорез белка, эритроциты, гематокрит, гемоглобин, тромбоциты, лейкоциты, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, лимфоциты и моноциты, ферритин, LDH, PT и PTT;
- Оценку активности комплемента: уровни C3, C4, C3a, C5a, Bb и sC5b9;

- Исследование мочи: общий анализ мочи и креатинин, альбумин, А/С и Р/С;
- Три 24-часовых сбора мочи: натрий, калий, креатинин, мочеви́на, глюкоза, фосфор, общий уровень белка, альбумин, выведение креатинина, А/С, Р/С, фракционное выведение альбумина, IgG, натрия и калия;
- Выведение иогексола: выведение иогексола из плазмы (мл/мин);
- Ультразвуковое исследование: оценка индекса перфузии и сопротивления.

4. Переменные исхода

Первичная переменная эффективности представляет собой уменьшение 24-часовой протеинурии. Вторичные переменные эффективности включают (1) полную или частичную ремиссию и рецидивы нефротического синдрома, (2) нормализацию (уменьшение до <303 нг/мл) уровней в плазме sC5b-9, (3) нормализацию уровней в плазме других компонентов системы комплемента, включая C3, C4, C3a, C5a и Bb, (4) улучшение параметров функции почек/перфузии, включая измеренную и оцененную скорость клубочковой фильтрации (GFR); фракционное выведение альбумина, IgG, натрия и калия; индекс сопротивления почек (5) уменьшение иммуногистохимических (C3, C5b-9, IgG, IgA, IgM, C4d, C1q, легкая цепь каппа, легкая цепь лямбда, CD21, C5aR), структурных и ультраструктурных изменений почек у пациентов, достигших полной или частичной ремиссии нефротического синдрома, и (6) изменения уровней сывороточного альбумина, липидов и других клинических и лабораторных параметров.

Исходы безопасности включают серьезные и несерьезные неблагоприятные события, включая острые реакции во время инфузии экулизумаба, случаи инфекции (включая менингоэнцефалит).

Данные исхода и стоимость лечения используют для анализов стоимости/эффективности.

5. Способы

Определение sC5b-9 в плазме

Кровь собирают с ЭДТА и центрифугируют при $2000 \times g$ в течение 20 мин при 4°C . Плазму хранят при -20°C (до шести месяцев после отбора образцов) или при -80°C . Уровни sC5b-9 оценивают посредством твердофазного ферментного иммунологического анализа, коммерчески доступного из Quidel (MicroVue SC5b-9 Plus).

Иммунофлуоресцентное окрашивание по IgG, C3 и C5b9

Замороженные срезы фиксируют в ацетоне в течение 10 мин при 4°C . Участки неспецифического связывания блокируют с использованием PBS1X/BSA3%. Затем срезы инкубируют со следующими специфическими антителами: конъюгированное с флуоресцеинизотиоцианатом (FITC) антитело кролика против C3 человека (1:25, Dako), конъюгированные с FITC антитело кролика против IgG человека (1:25, Dako) и антитело кролика против C5b9 человека (1:200, Calbiochem). Для окрашивания C5b9, срезы инкубируют с конъюгированным с Cy3 вторичным антителом козы против IgG кролика (1:100, Jackson ImmunoResearch Laboratories). Отрицательный контроль получают посредством исключения первичного антитела.

Оценку выполняют два неосведомленных исследователя. По меньшей мере 10 гломерул анализируют для каждого среза, и интенсивность сигнала ранжируют по шкале 0-3 (0=отсутствие окрашивания; 1=слабое окрашивание; 2=окрашивание умеренной интенсивности; 3=сильное окрашивание).

Иммунопероксидазное окрашивание по C4d

Фиксированные с использованием Dubosq-Brazil и погруженные в парафин срезы обрабатывают цитратным буфером (10 mM лимонная кислота, pH6) и протеиназой К (10 мин при 37°C, 20 мкг/мл) для демаскировки антигена. Участки неспецифического связывания блокируют с использованием PBS1X/BSA1%/5% сыворотки козы. Затем срезы инкубируют с первичным антителом (C4d, 1:50, Pantec-Biomedica) и с биотинилированным вторичным антителом козы против IgG кролика (1:150, Vector Laboratories). Сигналы проявляют с использованием 3,3'-диаминобензидина (DAB, Vector Laboratories), и срезы подвергают контрастному окрашиванию гематоксилином-эозином. Отрицательный контроль получают посредством исключения первичного антитела.

По меньшей мере 10-20 неперекрывающихся полей для каждого среза исследуют два неосведомленных исследователя, и интенсивность сигнала ранжируют по шкале 0-3 (0=отсутствие окрашивания; 1=слабое окрашивание; 2=окрашивание умеренной интенсивности; 3=сильное окрашивание).

Скорость клубочковой фильтрации

GFR централизованно определяют с использованием способа выведения иогексола из плазмы. На утро оценки функции почек, 5 мл раствора иогексола (Omnipaque 300, GE Healthcare, Milan, Italy) инъецируют внутривенно в течение 2 минут. Множество образцов крови отбирают в разных временных точках, и уровни иогексола в плазме измеряют посредством высокоэффективной жидкостной хроматографии. Выведение иогексола рассчитывают в соответствии с однокамерной моделью (CL1) по формуле: $CL1 = \text{доза} / \text{AUC}$, где AUC представляет собой площадь под кривой зависимости концентрации в плазме от времени¹⁶. Затем выведение из плазмы корректируют с использованием формулы $CL = (0,9907786CL11) - (0,0012186CL12)$, и значения GFR нормализуют по площади поверхности тела (BSA) 1,73 м². Этот способ имеет значительную точность в широком диапазоне функции почек, как документировано по низкому среднему коэффициенту внутрииндивидуальной изменчивости (5,59%) и хорошему коэффициенту воспроизводимости (6,28%), наблюдаемому при повторяющихся измерениях у субъектов с почти терминальной почечной недостаточностью, нормальной GFR или даже гиперфильтрацией.

6. Исследуемый лекарственный препарат (IMP)

Наименованием IMP является Soliris® 300 мг, концентрат для раствора для инфузии. Soliris® (экулизумаб) представляет собой гуманизированное моноклональное антитело (IgG2/4), продуцированное в линии клеток NS0 посредством технологии рекомбинантной ДНК. Один флакон 30 мл содержит 300 мг экулизумаба (10 мг/мл). После разведения, конечная концентрация вводимого посредством инфузии раствора составляет

5 мг/мл.

Наполнители с известным эффектом: натрий (5 ммоль на флакон). Наполнители включают фосфат натрия (одноосновный), фосфат натрия (двухосновный), хлорид натрия, полисорбат 80 и воду для инъекций.

Экулизумаб хранят в холодильнике (2°C - 8°C) и не замораживают. Его хранят в оригинальной упаковке для защиты от света. Флаконы с экулизумабом в оригинальной упаковке можно извлекать из охлаждаемого хранилища только на один однократный период вплоть до 3 суток. По окончании этого периода препарат помещают обратно в холодильник. После разведения, лекарственный препарат используют немедленно. Однако, показана его химическая и физическая стабильность в течение 24 часов при 2°C - 8°C.

Для уменьшения риска инфекции, всех пациентов вакцинируют по меньшей мере за 2 недели до введения экулизумаба. Пациентов, подвергаемых лечению с использованием экулизумаба менее, чем через 2 недели после введения менингококковой вакцины, подвергают лечению подходящими профилактическими антибиотиками до 2 недель после вакцинации. Пациентов ревакцинируют в соответствии с современными медицинскими руководствами для использования вакцинации. Настоятельно рекомендованы тетравалентные вакцины против серотипов A, C, Y и W135, предпочтительно, конъюгированные. Пациентов, для которых вакцинация противопоказана, подвергают лечению подходящими профилактическими антибиотиками во время всего периода лечения.

Пациентов в возрасте менее 18 лет вакцинируют против инфекций *Haemophilus influenzae* и пневмококковых инфекций, и строго придерживаются национальных рекомендаций по вакцинации для каждой возрастной группы.

Экулизумаб вводит работник здравоохранения и под руководством терапевта с опытом ведения пациентов с гематологическими и/или почечными нарушениями. Для первого введения, реаниматолог сопровождает начало лечения и доступен по вызову на протяжении всей длительности инфузии. Для всех других введений, реаниматолог доступен по вызову.

Режим дозирования для взрослых пациентов (в возрасте ≥ 18 лет) состоит из 4-недельной начальной фазы с последующей фазой поддержания, как показано в таблице 1:

Таблица 1: Режим дозирования для взрослых

Начальная фаза	900 мг экулизумаба посредством 25-45-минутной внутривенной инфузии каждую неделю в течение первых 4 недель
Фаза поддержания	1200 мг экулизумаба, введенные посредством 25-45-минутной внутривенной инфузии, в течение пятой недели, с последующими 1200 мг экулизумаба, введенными посредством 25-45-минутной внутривенной инфузии каждые 14 ± 2 суток

Для пациентов детского возраста (менее 18 лет), режим дозирования экулизумаба

является таким, как показано в таблице 2:

Таблица 2: Режим дозирования для пациентов детского возраста

Масса тела пациента	Начальная фаза	Фаза поддержания
≥ 40 кг	900 мг один раз в неделю x 4	1200 мг на неделе 5; затем 1200 мг каждые 2 недели
30 - <40 кг	600 мг один раз в неделю x 2	900 мг на неделе 3; затем 900 мг каждые 2 недели
20 - <30 кг	600 мг один раз в неделю x 2	600 мг на неделе 3; затем 600 мг каждые 2 недели
10 - <20 кг	600 мг один раз в неделю x 1	300 мг на неделе 2; затем 300 мг каждые 2 недели
5 - <10 кг	300 мг один раз в неделю x 1	300 мг на неделе 2; затем 300 мг каждые 3 недели

Экулизумаб не вводят в форме внутривенной струйной или болюсной инъекции. Экулизумаб вводят только посредством внутривенной инфузии, как описано ниже. Перед введением, раствор экулизумаба визуально проверяют на наличие частиц и изменение окраски. Восстановление и разведение проводят в соответствии с правилами надлежащей практики, в частности, применительно к асептическим условиям. Общее количество экулизумаба отбирают из флакона(флаконов) с использованием стерильного шприца. Рекомендованную дозу переносят в пакет для инфузии. Экулизумаб разводят до конечной концентрации 5 мг/мл посредством добавления в пакет для инфузии, с использованием раствора 9 мг/мл (0,9%) хлорида натрия для инъекций, раствора 4,5 мг/мл (0,45%) хлорида натрия для инъекций или 5% декстрозы в воде, в качестве разбавителей. Конечный объем разведенного до 5 мг/мл раствора составляет 60 мл для доз 300 мг, 120 мл для доз 600 мг, 180 мл для доз 900 мг и 240 мл для доз 1200 мг. Раствор является прозрачным и бесцветным. Пакет для инфузии, содержащий разведенный раствор, осторожно встряхивают для обеспечения полного смешивания препарата и разбавителей. Разведенному раствору позволяют нагреться до комнатной температуры перед введением под воздействием окружающего воздуха. Любую неиспользованную часть, оставшуюся в флаконе, отбрасывают, поскольку препарат не содержит консервантов. Любой неиспользованный лекарственный препарат или отходы утилизируют в соответствии с местными требованиями.

Разведенный раствор экулизумаба вводят посредством внутривенной инфузии в течение 25-45 минут самотеком, посредством насоса шприцевого типа или инфузионного насоса. Нет необходимости защищать разведенный раствор экулизумаба от света во время введения пациенту. Пациентов мониторируют в течение одного часа после инфузии. Если неблагоприятное событие возникает во время введения экулизумаба, инфузию замедляют или останавливают по решению терапевта. Если инфузию замедляют, общее время

инфузии не превышает двух часов для взрослых и подростков (в возрасте от 12 лет до не более 18 лет) и четырех часов для детей в возрасте менее 12 лет. Для всех пациентов сохраняют активное отслеживание до шести месяцев после последнего введения экулизумаба. Для пациентов с доказательством полной или частичной ремиссии нефротического синдрома после одного года лечения, терапию экулизумабом продолжают по соображениям гуманности. В случае отмены лекарственного средства (из-за побочных эффектов, таких как тяжелые инфекции и лейкопения, несоблюдения режима лечения пациентом), для пациента продолжают консервативную терапию и клиническое мониторирование в экспертном центре вплоть до одного года от начала исследования.

Стероидные и иммуносупрессивные лекарственные средства отменяют за шесть месяцев до введения экулизумаба.

Исследуемое лекарственное средство изготовлено в Alexion Pharmaceuticals, Inc. Замена этикеток IMP поручена сертифицированной компании. Этикетки на бутылках заменяют на «отрывные» этикетки. Когда вводят исследуемое лекарственное средство, тогда исследователь отрывает соответствующую часть этикетки с каждой коробки и фиксирует ее в предоставленном месте в соответствующей форме.

7. Статистические способы

А План статистического анализа (SAP), детализирующий анализы, описанные ниже, разработан до закрытия доступа к базе данных. Анализы проводят с использованием программного обеспечения SAS (версии 9.1) или выше и Stata (версии 12) или выше, или другого проверенного программного обеспечения. SAP, подробно описывающий способы, подлежащие использованию для первичных и вторичных конечных точек, служит окончательной схемой разрешения конфликтов для всех статистических анализов.

Оценка размера выборки

Это клиническое пилотное исследование, с поисковыми целями, где количество участников основано на доступности пациентов, а не на размере выборки, рассчитанном по ожидаемому изменению рассматриваемых переменных исхода.

Статистический анализ

Все непрерывные переменных исхода оценивают посредством линейной модели смешанных эффектов, которая может включать предопределенные исходные ковариации. Вышеуказанная модель включает случайные эффекты (с использованием неструктурированной ковариационной матрицы) для учета коррелированных наблюдений для одного и того же пациента. Способ Каплана-Мейера используют для данных выживаемости. Время выживаемости определяют от начала первого лечения до представляющего интерес события. В контексте многих переменных, осуществляют регрессионную модель Кокса. Ожидают, что протеинурия, триглицериды и длительность постоянной протеинурии имеют асимметричное распределение, и тогда их подвергают логарифмическому преобразованию перед статистическими анализами. Уменьшение скорости GFR оценивают посредством одиночной линейной модели с использованием по

меньшей мере трех значений GFR, включая исходное. Корреляцию между уменьшением протеинурии при отслеживании и уменьшением GFR после введения экулизумаба оценивают с использованием теста ранговой корреляции Спирмена. Данные исходных характеристик представлены как числа и проценты, средние и SD, или медианы и межквартильные диапазоны (IQR), в зависимости от ситуации. Сравнения между группами выполняют с использованием однофакторного ANOVA, критерия Крускала-Уоллиса, критерия хи-квадрат или теста тенденции Кохрана-Армитажа, в зависимости от ситуации. Задачу множественных сравнений решают посредством коррекции Бонферрони. Данные отслеживания выражают как медианы и диапазоны или IQR. Нормальность для непрерывных переменных оценивают посредством графика Q-Q. Все значения P являются двусторонними.

8. Исключение пациентов

Пациентов исключают (1) по их собственному запросу без объяснения причин, (2) по решению исследователя или (3) если возникают неблагоприятные события (включая сопутствующее заболевание), препятствующие продолжению введения исследуемого лекарственного средства.

Причину исключения документируют в форме регистрации участника клинического исследования и в медицинской карте пациента. Когда это практически осуществимо, для пациентов, для которых преждевременно прекращают исследуемое лечение, сохраняют активное отслеживание, вплоть до завершения запланированного периода наблюдения.

9. Преждевременное прекращение исследования

Исследователь имеет право прекратить исследование в любое время, по разумным медицинским и/или административным причинам. Причины прекращения документируют соответствующим образом, и информацию подают в соответствии с местными требованиями (например, этическим комитетам/регуляторным органам).

10. Неблагоприятное событие

«Неблагоприятное событие» представляет собой любое нежелательное медицинское явление у пациента или у включенного в клиническое исследование пациента, которому вводят фармацевтический продукт, и оно необязательно должно иметь причинно-следственную связь с этим лечением. Неблагоприятное событие (АЕ) может, таким образом, представлять собой любой неблагоприятный и непредусмотренный признак (включая, например, аномальное лабораторное обнаружение), симптом или заболевание, ассоциированные по времени с использованием лекарственного препарата, независимо от того, считают или нет их связанными с лекарственным препаратом.

«Неблагоприятная реакция» представляет собой любой неблагоприятный и непредусмотренный ответ на IMP, связанный с любой введенной дозой. Ответ на лекарственный препарат приводят, когда причинно-следственная связь между неблагоприятным событием и одним из IMP имеет по меньшей мере разумную вероятность.

«Серьезное неблагоприятное событие» представляет собой любое нежелательное медицинское явление, которое при любой дозе: приводит к смерти, является непосредственно опасным для жизни, требует госпитализации пациента или продления существующей госпитализации, приводит к постоянной или значительной инвалидности/недееспособности, представляет собой врожденный порок развития плода/патологию родов или любое другое важное с точки зрения медицины состояние

Событие, не удовлетворяющее вышеуказанным определениям, рассматривают как «несерьезное».

«Предполагаемая непредвиденная серьезная неблагоприятная реакция» (SAE) представляет собой реакцию, характер или тяжесть которой не согласуются с информацией о применимом продукте.

ПРИМЕР 2: Промежуточные результаты «исследования Eagle»

Исследование фазы II проводили для исследования эффективности экулизумаба у пациентов с PNH, подтвержденным по биопсии MPGN и нефротическим синдромом, по существу в соответствии со способом, описанным выше в примере 1.

1. Данные

Вплоть до 24 июня 2015 г., десять включенных пациентов имели полный набор данных, доступных для анализов через 12 недель отслеживания (когорта 1). Восемь из этих десяти пациентов имели также полный набор данных, доступных для анализов через 24 недели (когорта 2). Исходные характеристики пациентов приведены в таблице 3.

Таблица 3: Исходные характеристики пациентов

Пол	Мужчины/Женщины	6/4
Возраст	Лет - медиана (диапазон)	18 (13-33)
Гистологический паттерн	C3GN/IC-MPGN	4/6
Циркулирующий C3 Nef	Да/Нет	4/6
Идентифицированная мутация компонентов комплемента	Да/Нет	2/8
sC3b9	мг/дл - медиана (IQR)	2420 (1916-3331)
Сывороточный креатинин	мг/дл	1,18±0,9
Сывороточный альбумин	г/дл	2,29±0,5
GFR	мл/мин	69,7±4,3
Протеинурия	г/2-час	7,61±4,3
Терапия ингибитором ACE	Да/Нет	10/0

Данные представляют собой среднее±SD, если не указано иное.

Результаты анализов уровней сывороточного C5b9 зарегистрированы для обеих когорт, вплоть до последнего доступного отслеживания (12 и 24 недели, соответственно), вместе с данными первичной переменной эффективности (24-часового выделения белка в моче) и других ключевых переменных эффективности, включая 24-часовое выделение

альбумина в моче, измеренную скорость клубочковой фильтрации (GER), фракционное выведение альбумина и IgG, сывороточный креатинин, альбумин, общий уровень белка, общий уровень холестерина, уровни LDL- и HDL-холестерина, и триглицеридов, и систолическое и диастолическое кровяное давление. Выведение иогексола из плазмы не измеряли у одного пациента из-за зарегистрированной аллергии в анамнезе. Для другого пациента, данные еще не были доступны для анализов на время настоящей публикации. Таким образом, данные GER и связанных с GER параметров, таких как фракционное выведение альбумина и IgG, являлись доступными для восьми пациентов из когорты 1 и шести пациентов из когорты 2.

Для каждой учитываемой переменной данные регистрировали при включении (в исходной точке) и в каждой доступной временной точке при отслеживании (выраженной как неделя после исходной точки) как среднее, стандартное отклонение (SD), стандартная ошибка среднего (SEM), медиана, межквартильный диапазон (IQR), минимум (Мин) и максимум (Макс). Сравнения для одного пациента проводили между каждой временной точкой по сравнению с исходной точкой. Уровень значимости каждого сравнения приведен внизу каждой таблицы. Уровни, не достигающие номинальной статистической значимости ($p \leq 0,05$), не показаны.

Уровни сывороточного C5b9

У всех пациентов уровни сывороточного C5b9 сильно превышали верхний предел нормального диапазона при включении и нормализовались на протяжении всего периода наблюдения. Уменьшения уровня в сыворотке превышали один порядок величины у всех пациентов и являлись высоко значимыми в каждой временной точке, по сравнению с исходной точкой (таблица 4).

Таблица 4: Сывороточный sC5b9 (нг/мл)

Когорта 1 (n=10)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	3099,25	2072,40	655,35	2420,20	1915,70-3330,00	988,00	8130,00
Неделя 1	186,85*	82,46	26,08	176,61	114,00-206,60	86,20	348,00
Неделя 2	162,65*	60,10	22,72	186,55	104,30-220,00	82,40	233,32
Неделя 3	236,06*	197,24	74,55	178,00	146,26-232,70	86,20	671,64
Неделя 4	351,05*	253,16	95,68	328,42	137,03-622,38	93,10	748,30
Неделя 12	291,45*	95,61	42,76	315,20	262,94-364,50	140,00	374,60

Когорта 2 (n=8)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	3273,81	2311,31	817,17	2553,20	1804,53-4178,50	988,00	8130,00
Неделя 1	186,48*	93,05	32,90	172,50	107,50-248,80	86,20	348,00
Неделя 2	162,65*	60,10	22,72	186,55	104,30-220,00	82,40	233,32
Неделя 3	236,06*	197,24	74,55	178,00	146,26-232,70	86,20	671,64
Неделя 4	351,05*	253,16	95,68	328,42	137,03-622,38	93,10	748,30
Неделя 12	291,45*	95,61	42,76	315,20	262,94-364,50	140,00	374,60
Неделя 24	279,17*	92,05	32,54	247,05	214,00-348,60	174,08	440,00

* $p < 0,0005$, по сравнению с исходным

24- часовое выделение белка и альбумина в моче

24-часовое выделение белка в моче, первичная переменная эффективности в исследовании, и выделение альбумина в моче уменьшались у всех пациентов на протяжении периода отслеживания, за исключением одного отдельного пациента, для которого не показано существенного изменения обоих параметров в каждой рассматриваемой временной точке, по сравнению с исходной точкой. Выделение белка в моче значимо уменьшалось в каждой временной точке в обеих когортах, и уменьшение прогрессировало с течением времени, вплоть до последнего доступного отслеживания (таблица 5). Уменьшение выделения альбумина в моче также прогрессировало с течением времени и достигало номинальной значимости на неделе 1 в обеих когортах, и на неделе 24 в когорте 2 (таблица 6). Невозможность достижения номинальной значимости на неделе 12 в обеих когортах, в основном, объяснялось большой изменчивостью наблюдаемых изменений, по сравнению с исходной точкой.

Таблица 5: 24-час выделение белка в моче (грамм)

Когорта 1 (n=10)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	7,61	4,31	1,36	6,03	4,84-12,41	3,28	14,82
Неделя 1	6,55*	4,68	1,48	4,47	3,61-11,86	1,68	14,80
Неделя 12	4,65*	1,69	0,53	4,83	3,63-5,36	2,25	8,02

Когорта 2 (n=8)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	8,50	4,38	1,55	6,13	5,48-13,07	3,83	14,82
Неделя 1	7,24*	5,05	1,78	5,05	3,41-12,26	1,68	14,80
Неделя 12	4,97*	1,68	0,59	4,88	4,21-5,66	2,25	8,02
Неделя 24	4,05°	1,92	0,68	3,74	3,27-4,72	1,12	7,85

* $p = 0,02$, ° $p < 0,01$, по сравнению с исходным

Таблица 6: 24-час выделение альбумина в моче (мг)

Когорта 1 (n=10)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	3726,63	1950,08	616,67	3133,67	2433,00-6069,00	1339,33	6781,00
Неделя 1	3216,63*	2106,02	665,98	2512,33	1716,67-5484,33	904,00	6953,33
Неделя 12	2693,68	826,30	275,43	2831,67	2024,33-3225,69	1274,33	3853,70

Когорта 2 (n=8)							
Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	4186,75	1895,82	670,27	3382,67	2872,00-6180,17	1843,33	6781,00
Неделя 1	3552,79°	2247,21	794,51	2630,83	1945,67-5706,00	904,00	6953,33
Неделя 12	2992,06	629,33	237,86	3019,44	2561,33-3509,26	1943,33	3853,70
Неделя 24	1985,44°	838,67	296,52	2005,50	1612,00-2271,83	568,33	3536,50

*p=0,05, ° p=0,02, ∞ p<0,01, по сравнению с исходным

Скорость клубочковой фильтрации

GFR прогрессивно увеличивалась у всех пациентов из обеих когорт. Увеличение уже являлось очевидным на неделе 1 после лечения в обеих когортах и достигало номинальной значимости на неделе 24 в когорте 2. В когорте 2 увеличение GFR прогрессировало с течением времени (таблица 7).

Таблица 7: Скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м²)
Когорта 1 (n=8)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	67,08	36,65	12,96	68,83	30,24-93,94	27,29	123,38
Неделя 1	71,63	37,56	13,28	78,08	32,25-101,38	26,90	122,76

Когорта 2 (n=6)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	71,23	38,71	15,80	68,83	30,73-105,87	29,74	123,38
Неделя 1	75,93	38,48	15,71	78,08	32,68-112,16	31,81	122,76
Неделя 24	82,00*	42,10	17,19	81,86	37,67-123,26	33,58	133,74

*p=0,003, по сравнению с исходной

Фракционное выведение альбумина и IgG

Фракционное выведение альбумина и IgG улучшалось у всех пациентов из обеих когорт. Уменьшение обоих параметров являлось значимым в обеих когортах на неделе 1, и в когорте 2 также на неделе 24. В когорте 2 уменьшение фракционного выведения альбумина и фракционного выведения IgG прогрессировало с течением времени (таблицы 8 и 9).

Таблица 8: Фракционное выведение альбумина

Когорта 1 (n=8)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	418,12	367,74	130,02	317,21	109,72-653,54	72,32	1111,69

Неделя 1	301,42*	259,42	91,72	230,57	87,10-500,06	38,94	737,01
Когорта 2 (n=6)							
Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	438,52	409,16	167,04	317,21	85,67-727,01	72,32	1111,69
Неделя 1	308,97*	290,82	118,73	217,87	73,85-568,26	38,94	737,01
Неделя 24	144,58°	108,31	48,44	117,93	81,33-229,62	14,78	279,23

* p=0,02, ° p<0,01, по сравнению с исходным

Таблица 9: Фракционное выведение IgG
Когорта 1 (n=8)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	153,54	171,99	60,81	79,51	19,32-292,42	10,33	435,49
Неделя 1	94,43*	99,14	35,05	52,54	15,11-182,87	3,93	250,46
Когорта 2 (n=6)							
Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	167,79	193,77	79,10	79,51	12,92-389,00	10,33	435,49
Неделя 1	97,70*	110,78	45,22	49,84	10,94-221,20	3,93	250,46
Неделя 24	23,73°	18,06	7,37	21,12	12,67-28,40	3,95	55,09

* p=0,01, ° p<0,05, по сравнению с исходным

Сывороточный креатинин

Уровни сывороточного креатинина существенно не изменялись на протяжении всего периода исследования в обеих когортах (таблица 10).

Таблица 10: Сывороточный Креатинин (мг/дл)
Когорта 1 (n=10)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	1,18	0,94	0,30	0,68	0,50-1,95	0,39	3,18
Неделя 1	1,13	0,89	0,28	0,73	0,49-1,69	0,25	2,84
Неделя 2	1,03	0,80	0,25	0,69	0,38-1,57	0,27	2,40
Неделя 3	1,02	0,74	0,23	0,72	0,37-1,71	0,35	2,15
Неделя 4	1,07	0,72	0,23	0,69	0,36-1,69	0,31	2,10
Неделя 8	1,01	0,73	0,23	0,72	0,34-1,71	0,30	2,20
Неделя 12	1,11	0,81	0,26	0,68	0,41-1,88	0,31	2,40
Когорта 2 (n=8)							
Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс

Исходный	1,35	0,99	0,35	1,14	0,49-1,97	0,39	3,18
Неделя 1	1,31	0,91	0,32	1,21	0,54-1,95	0,25	2,84
Неделя 2	1,19	0,82	0,29	1,04	0,48-1,89	0,27	2,40
Неделя 3	1,18	0,75	0,26	1,11	0,46-1,91	0,35	2,15
Неделя 4	1,27	0,72	0,26	1,04	0,48-1,84	0,31	2,10
Неделя 8	1,16	0,74	0,26	1,10	0,49-1,82	0,30	2,20
Неделя 12	1,19	0,82	0,29	0,97	0,55-2,05	0,41	2,40
Неделя 16	1,22	0,80	0,28	1,07	0,50-1,95	0,34	2,40
Неделя 20	1,27	0,92	0,33	1,05	0,42-2,09	0,36	2,70
Неделя 24	1,23	0,87	0,31	1,03	0,46-1,98	0,32	2,63

Сывороточный альбумин и общий уровень белка

Уровень альбумина и общий уровень белка увеличивались у всех пациентов из обеих когорт, за исключением одного пациента. Увеличение прогрессировало с течением времени для обеих переменных в обеих когортах. В обеих когортах увеличение уровня сывороточного альбумина и общего уровня белка достигало номинальной значимости на неделе 8, по сравнению с исходной точкой, и увеличение постоянно являлось значимым при всех последующих осмотрах, вплоть до последнего доступного отслеживания (таблицы 11 и 12).

Таблица 11: Сывороточный альбумин (г/дл)

Когорта 1 (n=10)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	2,29	0,53	0,17	2,36	2,20-2,65	1,00	2,83
Неделя 1	2,39	0,57	0,18	2,44	2,23-2,80	1,00	3,00
Неделя 4	2,53	0,37	0,12	2,50	2,30-2,80	1,91	3,00
Неделя 8	2,78*	0,33	0,10	2,91	2,57-3,02	2,20	3,10
Неделя 12	2,81*	0,54	0,20	2,90	2,20-3,19	2,04	3,60

Когорта 2 (n=8)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	2,26	0,55	0,19	2,36	2,25-2,55	1,00	2,80
Неделя 1	2,37	0,65	0,23	2,49	2,17-2,84	1,00	3,00
Неделя 4	2,50	0,38	0,14	2,50	2,20-2,84	1,91	3,00
Неделя 8	2,79°	0,36	0,13	2,95	2,50-3,06	2,20	3,10
Неделя 12	2,81*	0,54	0,20	2,90	2,20-3,19	2,04	3,60
Неделя 16	3,03°	0,35	0,12	3,15	2,79-3,20	2,44	3,50
Неделя 20	3,04°	0,39	0,14	3,20	2,73-3,31	2,36	3,50
Неделя 24	2,75°	0,35	0,12	2,89	2,52-2,99	2,07	3,13

* p=0,05, ° p<0,01, по сравнению с исходным

Таблица 12: Сывороточный белок (г/дл)

Когорта 1 (n=10)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	4,56	0,77	0,24	4,65	4,40-5,20	2,80	5,40
Неделя 1	4,87	0,76	0,24	4,95	4,60-5,20	3,00	5,90
Неделя 4	4,90	0,39	0,12	4,95	4,60-5,20	4,30	5,40
Неделя 8	5,13*	0,41	0,13	5,15	4,90-5,20	4,40	5,90
Неделя 12	5,23°	0,47	0,15	5,20	4,90-5,80	4,50	5,90

Когорта 2 (n=8)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	4,56	0,80	0,28	4,65	4,45-5,05	2,80	5,40
Неделя 1	4,90	0,86	0,30	5,10	4,75-5,30	3,00	5,90
Неделя 4	4,84	0,42	0,15	4,75	4,50-5,25	4,30	5,40
Неделя 8	5,13*	0,47	0,17	5,10	4,85-5,40	4,40	5,90
Неделя 12	5,28°	0,52	0,18	5,25	4,85-5,80	4,50	5,90
Неделя 16	5,41*	0,50	0,18	5,50	4,95-5,85	4,70	6,00
Неделя 20	5,53°	0,55	0,19	5,75	5,00-5,95	4,70	6,10
Неделя 24	5,24°	0,48	0,17	5,35	5,00-5,55	4,30	5,80

* p=0,05, ° p<0,01, по сравнению с исходным

Сывороточные липиды

Общий уровень холестерина и уровень LDL-холестерина прогрессивно уменьшались в обеих когортах на протяжении всего периода исследования. Уменьшение общего уровня холестерина и уровня LDL-холестерина достигало номинальной значимости на неделе 8 в когорте 1 и на неделе 12 в когорте 2, по сравнению с исходной точкой. Уменьшение постоянно являлось значимым при всех последующих осмотрах, вплоть до последнего доступного отслеживания (таблицы 13 и 14).

Таблица 13: Общий уровень холестерина (мг/дл)

Когорта 1 (n=10)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	228,40	29,75	9,41	234,00	198,00-241,00	191,00	280,00
Неделя 1	231,90	55,85	17,66	236,00	190,00-246,00	150,00	357,00
Неделя 4	217,50	48,39	15,30	214,00	194,00-251,00	136,00	310,00
Неделя 8	199,70*	40,80	12,90	189,00	165,00-239,00	152,00	272,00
Неделя 12	204,00°	33,47	10,58	194,50	177,00-236,00	160,00	257,00

Когорта 2 (n=8)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	231,00	32,63	11,54	239,50	197,50-251,50	191,00	280,00
Неделя 1	235,38	60,98	21,56	236,00	201,50-250,50	150,00	357,00
Неделя 4	214,00	53,00	18,74	211,50	180,50-241,00	136,00	310,00
Неделя 8	204,00	45,10	15,95	194,50	164,00-245,50	152,00	272,00
Неделя 12	209,50*	35,50	12,55	214,50	178,00-237,00	160,00	257,00
Неделя 16	195,38*	42,22	14,93	195,50	159,50-228,00	143,00	254,00
Неделя 20	191,38*	31,46	11,12	204,00	170,50-213,50	131,00	224,00

Неделя 24 190,88* 44,68 15,80 187,00 155,00-214,50 138,00 276,00

* $p < 0,01$, по сравнению с исходным

Таблица 14: LDL-холестерин (мг/дл)

Когорта 1 (n=10)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	148,60	38,68	12,23	132,50	113,00-179,00	111,00	219,00
Неделя 1	148,00	60,51	19,14	136,00	105,00-193,00	54,00	251,00
Неделя 4	133,86	43,94	16,61	118,00	104,00-158,00	84,00	217,00
Неделя 8	122,63°	39,22	13,87	111,00	98,00-135,00	85,00	208,00
Неделя 12	121,11°	38,05	12,68	116,00	95,00-150,00	65,00	185,00

Когорта 2 (n=8)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	157,75	38,01	13,44	148,50	128,50-188,50	112,00	219,00
Неделя 1	153,25	66,42	23,48	150,00	107,00-203,50	54,00	251,00
Неделя 4	135,00	50,26	22,48	118,00	114,00-142,00	84,00	217,00
Неделя 8	130,83	42,21	17,23	121,00	111,00-139,00	85,00	208,00
Неделя 12	127,00°	41,29	15,61	116,00	95,00-162,00	65,00	185,00
Неделя 16	114,29**	37,53	14,18	107,00	84,00-130,00	70,00	186,00
Неделя 20	116,43**	38,50	14,55	120,00	79,00-141,00	69,00	183,00
Неделя 24	119,00*	52,18	18,45	109,00	79,50-148,00	64,00	215,00

° $p < 0,05$, * $p = 0,01$, ** $p < 0,01$, по сравнению с исходным

Уровни HDL в сыворотке имели тенденцию к увеличению в обеих когортах, на протяжении всего периода наблюдения. Увеличение, однако, не смогло достигнуть номинального уровня значимости в каждой рассматриваемой временной точке, по сравнению с исходной точкой (таблица 15).

Таблица 15: HDL-холестерин (мг/дл)

Когорта 1 (n=10)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	47,50	12,94	4,09	44,00	41,00-54,00	24,00	68,00
Неделя 1	55,20	34,11	10,79	45,00	39,00-51,00	32,00	149,00
Неделя 4	55,50	21,59	6,83	46,00	42,00-67,00	32,00	105,00
Неделя 8	55,40	19,51	6,17	51,00	41,00-68,00	30,00	99,00
Неделя 12	54,50	19,78	6,26	51,00	44,00-63,00	27,00	101,00

Когорта 2 (n=8)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	45,88	12,01	4,24	44,00	41,50-53,50	24,00	65,00
Неделя 1	56,13	38,04	13,45	45,00	39,50-49,50	32,00	149,00
Неделя 4	54,75	22,76	8,05	46,00	43,00-61,50	32,00	105,00
Неделя 8	55,38	20,72	7,33	51,00	44,50-61,50	30,00	99,00
Неделя 12	55,38	21,39	7,56	51,00	46,00-60,50	27,00	101,00
Неделя 16	54,75	22,00	7,78	51,50	43,00-63,50	24,00	98,00
Неделя 20	49,63	22,54	7,97	43,50	39,50-53,00	25,00	100,00
Неделя 24	48,38	12,94	4,57	46,50	39,50-56,00	31,00	72,00

Уровни сывороточных триглицеридов существенно не изменялись на протяжении всего периода наблюдения (таблица 16).

Таблица 16: Триглицериды (мг/дл)

Когорта 1 (n=10)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	136,20	84,57	26,74	103,00	77,00-231,00	45,00	283,00
Неделя 1	122,80	61,61	19,48	107,00	89,00-153,00	48,00	265,00
Неделя 4	123,70	49,84	15,76	130,00	78,00-156,00	54,00	215,00
Неделя 8	122,70	44,17	13,97	119,50	102,00-147,00	49,00	204,00
Неделя 12	121,20	43,96	13,90	112,00	101,00-156,00	42,00	195,00

Когорта 2 (n=8)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	128,38	86,63	30,63	98,50	63,00-188,00	45,00	283,00
Неделя 1	124,75	64,37	22,76	107,00	94,00-141,50	48,00	265,00
Неделя 4	119,88	55,03	19,45	116,50	74,00-154,50	54,00	215,00
Неделя 8	125,63	45,71	16,16	119,50	104,00-152,50	49,00	204,00
Неделя 12	123,63	46,55	16,46	112,00	105,50-158,50	42,00	195,00
Неделя 16	100,38	37,39	13,22	94,50	78,00-123,50	44,00	167,00
Неделя 20	109,38	51,22	18,11	114,00	66,00-146,00	38,00	185,00
Неделя 24	117,13	66,64	23,56	112,50	51,50-168,50	51,00	221,00

Систолическое и диастолическое кровяное давление

Систолическое и диастолическое кровяное давление существенно не изменялись в обеих когортах на протяжении всего периода исследования (таблица 17 и 18).

Таблица 17: Систолическое кровяное давление (мм рт. ст.)

Когорта 1 (n=10)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	120,87	13,58	4,29	124,33	112,00-131,67	98,00	138,00
Неделя 1	115,83	13,27	4,20	115,17	108,00-126,00	91,67	136,00
Неделя 2	120,25	14,35	4,54	124,67	104,33-133,33	98,50	134,33
Неделя 3	114,63	14,69	4,65	109,33	101,67-130,00	98,33	136,67
Неделя 4	116,17	17,07	5,40	115,50	105,00-131,67	93,00	139,33
Неделя 6	113,43	15,37	4,86	115,17	101,00-125,00	89,67	136,67
Неделя 8	119,97	13,68	4,33	123,17	106,67-128,33	98,00	142,33
Неделя 10	115,42	13,49	4,77	118,17	108,17-120,50	93,00	136,67
Неделя 12	119,00	17,98	6,36	115,67	108,00-129,83	94,33	150,67

Когорта 2 (n=8)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	122,83	14,65	5,18	128,67	112,17-132,50	98,00	138,00
Неделя 1	116,71	14,72	5,21	117,17	107,33-128,50	91,67	136,00
Неделя 2	122,85	14,74	5,21	131,17	110,50-133,33	98,50	134,33
Неделя 3	117,08	15,46	5,47	118,33	102,17-130,33	98,33	136,67
Неделя 4	118,67	18,40	6,51	124,17	100,17-134,17	93,00	139,33
Неделя 6	115,46	16,58	5,86	121,50	100,83-126,33	89,67	136,67
Неделя 8	120,04	15,25	5,39	123,17	106,17-130,67	98,00	142,33
Неделя 10	115,42	13,49	4,77	118,17	108,17-120,50	93,00	136,67
Неделя 12	119,00	17,98	6,36	115,67	108,00-129,83	94,33	150,67
Неделя 14	118,71	15,46	5,47	122,67	103,50-129,50	98,00	140,33
Неделя 16	120,46	17,30	6,12	121,17	104,50-133,33	99,00	146,67
Неделя 18	113,25	13,59	4,81	113,33	105,67-124,83	88,33	130,00

Неделя 20	116,81	18,51	6,55	115,83	105,50-128,50	88,33	146,50
Неделя 22	116,00	14,51	5,13	109,67	107,50-129,50	96,67	138,00
Неделя 24	118,19	21,05	7,96	116,00	103,00-138,33	87,67	142,67

Таблица 18: Диастолическое кровяное давление (мм рт. ст.)

Когорта 1 (n=10)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	74,87	12,77	4,04	75,67	61,33-84,33	55,33	92,33
Неделя 1	73,70	11,75	3,72	75,17	64,33-80,67	54,67	91,67
Неделя 2	77,43	13,63	4,31	78,17	65,00-90,00	56,00	94,33
Неделя 3	70,13	17,53	5,54	70,33	59,00-86,33	35,33	91,67
Неделя 4	72,53	14,76	4,67	75,50	57,33-87,33	55,00	92,00
Неделя 6	73,07	13,00	4,11	75,50	65,67-80,67	49,33	93,33
Неделя 8	75,37	11,42	3,61	74,00	66,67-83,33	55,00	95,00
Неделя 10	74,29	15,90	5,62	77,17	72,17-82,83	38,33	91,67
Неделя 12	76,65	14,12	4,99	75,92	64,83-83,83	60,67	103,33

Когорта 2 (n=8)

Осмотр	Среднее	SD	SEM	Медиана	IQR	Мин	Макс
Исходный	77,83	11,94	4,22	78,83	68,33-87,50	61,00	92,33
Неделя 1	75,96	10,95	3,87	77,50	67,50-83,50	59,00	91,67
Неделя 2	80,58	13,50	4,77	84,17	71,33-91,67	56,00	94,33
Неделя 3	76,21	12,35	4,37	76,17	66,17-87,17	59,00	91,67
Неделя 4	76,62	13,57	4,80	79,67	64,50-87,83	57,00	92,00
Неделя 6	74,79	14,14	5,00	78,83	66,33-82,67	49,33	93,33
Неделя 8	76,54	12,46	4,40	78,00	69,17-84,00	55,00	95,00
Неделя 10	74,29	15,90	5,62	77,17	72,17-82,83	38,33	91,67
Неделя 12	76,65	14,12	4,99	75,92	64,83-83,83	60,67	103,33
Неделя 14	78,38	10,02	3,54	79,67	75,50-86,17	56,67	87,67
Неделя 16	74,54	13,79	4,87	76,50	67,67-80,50	50,33	96,67
Неделя 18	75,88	9,44	3,34	75,33	68,33-83,50	63,00	89,67
Неделя 20	74,65	12,18	4,30	75,83	66,83-79,67	56,00	96,50
Неделя 22	75,92	11,21	3,96	75,33	66,33-84,33	63,00	92,33
Неделя 24	75,90	11,44	4,32	73,00	64,67-86,67	60,00	89,33

2. Конечные точки прогрессирования

На время настоящей публикации, два пациента достигли частичной ремиссии (24-час выделение белка в моче <3,5 грамм, с по меньшей мере 50% уменьшением, по сравнению с исходным). Конечная точка достигнута на неделе 12. Три дополнительных пациента приблизились к этой конечной точке через шесть месяцев, поскольку их 24-часовая протеинурия уменьшилась до менее 3,5 грамм, но уменьшение все еще составляло менее 50%, по сравнению с исходной точкой.

3. Безопасность

Лечение, как правило, являлось хорошо переносимым. Ни в одном случае лечение не было прекращено, и для всех пациентов завершены все запланированные инфузии, в соответствии с руководством протокола исследования. Один приступ преходящей

временной гемианопсии, с полным восстановлением в течение двух часов, наблюдали во время одной однократной инфузии у одного пациента и интерпретировали как клиническое проявление приступа гемикрании. Приступ сочли связанным с лечением и требующим госпитализации пациента. Один приступ преходящей головной боли зарегистрирован у одного другого пациента, датированный во время первых двух инфузий. Оба приступа сочли несерьезными, и произошло полное спонтанное восстановление. Во время следующих введений лекарственного средства, скорость инфузии лекарственного средства являлась самой медленной, и событие больше не повторялось.

4. Обсуждение

Лечение нормализовало активацию комплемента у всех пациентов и являлось безопасным. Ингибирование комплемента было ассоциировано с значительным и клинически значимым улучшением протеинурии, альбуминурии, клубочковой фильтрации и функции фильтрации, сывороточного альбумина и дислипидемии (аномального количества липидов (например, триглицеридов, холестерина и/или жировых фосфолипидов) в крови) у девяти из десяти пациентов, включенных в исследование. Тот факт, что эффект лечения являлся длительным с течением времени для всех учитываемых параметров, и что наблюдаемые изменения достигали номинальной значимости (несмотря на относительно небольшое количество пациентов), обеспечивает убедительное доказательство надежности обнаружений исследования. Это дополнительно подтверждено обнаружением, что два пациента уже достигли частичной ремиссии нефротического синдрома через 12 недель лечения, и что два дополнительных пациента приблизились к этой конечной точке на неделе 24. Обнаружение того, что уровень сывороточного альбумина (и общий уровень белка) отражали изменения, наблюдаемые для общего уровня сывороточного холестерина и LDL-холестерина, сильно поддерживают предположение, что облегчение дислипидемии было опосредовано облегчением гипоальбуминемии, которое, в свою очередь, поддерживалось посредством функции фильтрации почек и протеинурии.

Второстепенным, но интригующим обнаружением являлось то, что увеличение GFR являлось очевидным уже на неделе один после включения. Хотя это изменение не смогло достичь статистической значимости, его постоянно наблюдали у всех включенных пациентов. С другой стороны, несмотря на значимое увеличение GFR, значимого изменения уровней сывороточного креатинина не наблюдали на протяжении всего периода исследования. Эти обнаружения подтверждают, что сывороточный креатинин является необычайно плохим маркером функции почек, и что клинически значимые эффекты могут быть пропущены, когда функцию почек монитрируют по уровням сывороточного креатинина (или по формулам оценки GFR на основании креатинина), в частности, в патофизиологических исследованиях для относительно небольшого количества пациентов.

Следует отметить, что у девяти отвечающих пациентов, исходные уровни

сывороточного C5b9 сильно превышали (в два-пять раз) предел для включения (1000 нг/мл), в то время как уровень сывороточного C5b9 (998 нг/мл) только приближался к этому пределу у одного пациента, который, по-видимому, не получал существенного преимущества от лечения. Возможной интерпретацией вышеуказанных обнаружений является то, что у пациентов, отвечающих на терапию экулизумабом, протеинурия и другие проявления заболевания в большой степени замедлялись посредством сильной активации комплемента, в то время как у (очевидно) не отвечающего пациента, они преимущественно объяснялись хроническими механизмами (подобными остаточной функции почек). Вышеуказанные данные, однако, необходимо интерпретировать с осторожностью, поскольку первичный мембранопролиферативный гломерулонефрит ассоциирован с быстрым ухудшением функции почек с течением времени, в частности, когда заболевание ассоциировано с постоянным нефротическим синдромом. Обнаружение того, что у «не отвечающего» пациента, GFR и другие клинические проявления заболевания существенно не изменялись на протяжении 12-месячного периода наблюдения, могут являться доказательством некоторого преимущества от лечения.

Совместно, обнаружения в исследовании обеспечивают убедительное доказательство сильного и клинически значимого преимущества терапии экулизумабом у пациентов с первичным мембранопролиферативным гломерулонефритом, нефротическим синдромом и активацией комплемента. Ожидают, что в долгосрочной перспективе, эти эффекты могут замедлять и, можно надеяться, прекращать прогрессирование до конечной стадии заболевания почки, и уменьшать или предотвращать риск осложнений нефротического синдрома.

ПРИМЕР 3: Расширение «Исследования Eagle»

В промежуточных анализах исследования, описанного в примере 1 (включая данные и результаты, обсуждаемые в примере 2), постоянно обнаруживали, что лечение экулизумабом нормализовало активацию комплемента у всех пациентов и являлось безопасным. Ингибирование комплемента было ассоциировано с значительным и клинически значимым улучшением протеинурии, альбуминурии, клубочковой фильтрации и функции фильтрации, сывороточного альбумина и дислипидемии у девяти из десяти пациентов, включенных в исследование.

Соответственно, в этом расширенном отслеживании исследования, описанного в примере 1, пациентов, завершивших первый 1-летний период лечения и 3-месячный период восстановления, переводили во второй 1-летний период лечения (расширенное лечение экулизумабом), с последующим вторым 3-месячным периодом восстановления.

1. Цели

Первичной целью этого расширенного исследования является оценка того, может ли повторное подвергание терапии экулизумабом уменьшать 24-часовую протеинурию, рассматриваемую как непрерывную переменную, через 6 месяцев (на неделе 24) и 12 месяцев (на неделе 48) расширения исследования Eagle по сравнению с значениями при восстановлении.

Совместной первичной целью является оценка того, увеличивается ли в течение 3-месячного периода вымывания после 12-месячной терапии экулизумабом (восстановление после исследования EAGLE: период восстановления 1) и в течение 3-месячного периода вымывания после расширенного 1-летнего периода лечения экулизумабом (период восстановления 2) 24-часовое выделение белка в моче по направлению к исходным уровням до лечения.

Вторичные цели включают:

i. Оценку того, может ли повторное подвергание терапии экулизумабом обеспечивать постоянную, либо полную (определенную как уменьшение 24-часового выделения белка в моче до $<0,3$ грамм для взрослых и <4 мг/час/м² для детей), либо частичную (определенную как уменьшение 24-часового выделения белка до $< 3,5$ грамм, с по меньшей мере 50% уменьшением от исходного, для взрослых или <40 мг/час/м², с по меньшей мере 50% уменьшением от исходного, для детей) ремиссию нефротического синдрома;

ii. Оценку эффекта терапии экулизумабом на рецидивы нефротического синдрома, определенные как увеличение 24-часового выделения белка в моче до $> 3,5$ грамм для взрослых или >40 мг/час/м² для детей, после периода частичной или полной ремиссии;

iii. Оценку эффекта терапии экулизумабом на клинические (массу тела, систолическое и диастолическое кровяное давление) и лабораторные параметры (соотношение альбумина/креатинина в моче, сывороточный креатинин, выведение креатинина, общий уровень сывороточных белков, сывороточный альбумин, уровни LDL-, HDL-холестерина и триглицеридов, гематокрит и концентрацию гемоглобина);

iv. Оценку эффекта терапии экулизумабом на параметры функции почек (скорость клубочковой фильтрации (GFR), напрямую измеренную способом выведения иогексола из плазмы и оцененную посредством формул оценки на основании креатинина и цистатина С, фракционное выведение альбумина, IgG, натрия, калия, индекс сопротивления почек по ультразвуковому исследованию);

v. Оценку эффекта терапии экулизумабом на маркеры активности комплемента (C3, C4, C3a, C5a, Bb и sC5b9);

vi. Оценку профиля безопасности для лечения экулизумабом;

vii. Оценку стоимости/эффективности исследуемого лечения;

viii. Оценку биомаркеров, подлежащих тестированию, в случае значимого эффекта лечения на первичную переменную эффективности.

2. Пациенты

Критерии исключения отражают критерии исключения из исследования Eagle (см. пример 1). Критерии включения являются следующими:

А. Завершение исследования Eagle (см. пример 1);

В. Письменное информированное согласие (от родителей или опекунов для несовершеннолетних) на расширенное лечение экулизумабом.

3. Дизайн исследования

Это расширенное исследование Eagle организовано как 3-месячная фаза восстановления (восстановление 1) после завершения исследования Eagle (см. пример 1), с последующими вторым 1-летним расширенным периодом лечения экулизумабом и второй 3-месячной фазой восстановления (восстановлением 2). Десять пациентов, завершивших исследование Eagle, включены в настоящее расширенное исследование.

Фаза восстановления 1

После завершения исследования Eagle, параметры, оцененные при последнем осмотре исследования Eagle, повторно оценивают через 1, 2 и 3 месяца после отмены экулизумаба (период восстановления). GFR, фракционное выведение альбумина, Ig и натрия оценивают только в конце периода восстановления (месяц 3). После завершения периода восстановления, пациентов подвергают первой внутривенной инфузии экулизумаба и вводят во второй 1-летний период лечения экулизумабом. Исследователи, однако, имеют возможность предусматривать введение экулизумаба до завершения 3-месячного периода восстановления в случае событий, предположительно связанных с отменой экулизумаба, которые могут нанести вред исследуемому пациенту. Эти события могут включать увеличение 24-часового выделения белка в моче до нефротического диапазона у пациентов, которые ранее достигали полной ремиссии, и/или увеличение, превышающее 50%, по сравнению с уровнем, достигнутым в конце 1-летнего периода лечения. Другие изменения, которые могут указывать на предусмотренное введение экулизумаба, могут включать увеличение уровней сывороточного креатинина (подтвержденное по меньшей мере в двух последовательных измерениях), превышающее более, чем на 20%, уровни сывороточного креатинина, наблюдаемые в конце периода лечения, или другие изменения компонентов нефротического синдрома, которые, по мнению исследователя, могут являться опасными для пациента.

Расширенный 1-летний период лечения экулизумабом

Во время расширенного 1-летнего периода лечения, пациентов подвергают лечению, в точности как описано для исследования Eagle. Оценки, проведенные в конце периода восстановления, повторяют на неделе 24 и на неделе 48. Во время фазы индукции (4 недели), параметры безопасности и маркеры активности комплемента измеряют один раз в неделю. Во время фазы поддержания (44 недели), параметры безопасности измеряют один раз в месяц. Дополнительные оценки допускают во всех случаях, когда это кажется клинически целесообразным, в частности, из соображений безопасности.

Дополнительные образцы плазмы, сыворотки и мочи собирают до первого введения экулизумаба, на неделе 2, 4, 12, 24, 36 и 48, для оценок, подробно описанных в таблице 19. Образцы сохраняют и, на основании обнаружений в исследовании, исследуют механизмы ожидаемых эффектов экулизумаба на первичные или вторичные переменные эффективности.

Таблица 19: Оценки биомаркеров

Цель	Биомаркер	Среда	Временные точки
------	-----------	-------	-----------------

Цель	Биомаркер	Среда	Временные точки
PD	C3/C4	Сыворотка	Временные точки сут.-3, н. 1, 2, 3, 4, 12, 24, 36, 48 и 3 месяца после прекращения ЕС
PD	C5	Плазма, ВР100	”
PD	C5a	Плазма, ВР100	”
PD	sC5b-9	Плазма, ВР100	”
Поисковая PD, альтернативный путь	Ba, Bb	Плазма, ВР100	Временные точки сут.-3, н. 2, 4, 12, 24, 36, 48 и 3 месяца после прекращения ЕС
Поисковая PD, местная по сравнению с системной	C5a	Моча/ингибитор протеазы	”
Поисковая PD, местная по сравнению с системной	C5b-9	Моча/ингибитор протеазы	”
Поисковая PD, альтернативный путь, местная по сравнению с системной	Ba	Моча/ингибитор протеазы	”
Нормализация	Креатинин в моче	Моча/ингибитор протеазы	”
Поисковая PD	Маркеры воспаления/тромбоцитов или активации эндотелия, которые могут включать, но без ограничения, хемокины или цитокины	Сыворотка, моча/ингибитор протеазы, плазма, ВР100	”

Цель	Биомаркер	Среда	Временные точки
Поисковая PD	Маркеры воспаления/повреждения почки, которые могут включать, но без ограничения, хемокины, цитокины, молекулу-1 повреждения почки, остеопонтин, цистатин С, альбумин, бета-2- микроглобулин	Моча/ингибитор протеазы	”
PD	C3	ИНС	Сут.-2, н. 48
PD	C4d	ИНС	”
PD	sC5b-9	ИНС	”
PD	IgG	ИНС	”
Поисковая PD	Другие маркеры воспаления, которые могут включать, но без ограничения CD21, C5aR	ИНС	”

Фаза восстановления 2

После завершения 1-летнего расширенного периода лечения экулизумабом, параметры, оцененные при последнем осмотре из расширенного периода лечения, оценивают повторно через 1, 2 и 3 месяца после отмены экулизумаба (период восстановления 2). GFR, фракционное выведение альбумина, Ig и натрия оценивают только в конце периода восстановления (месяц 3).

4. Переменная исхода

Первичные переменные эффективности включают изменение 24-часовой протеинурии, рассматриваемое в качестве непрерывной переменной, через 6 месяцев (на неделе 24) и 12 месяцев (на неделе 48) расширения EAGLE, по сравнению с значениями при восстановлении.

Сопутствующая первичная переменная эффективности включает изменения 24-часовой протеинурии, рассматриваемые в качестве непрерывной переменной, во время первого и второго периодов восстановления.

Вторичные переменные эффективности включают: (1) полную или частичную ремиссию нефротического синдрома, (2) нормализацию (уменьшение до <303 нг/мл) уровней в плазме sC5b-9, (3) нормализацию уровней в плазме других компонентов системы комплемента, включая C3, C4, C3a, C5a и Bb, (4) улучшение параметров функции

почек/перфузии, включая измеренную и оцененную скорость клубочковой фильтрации (GFR); фракционное выведение альбумина, IgG, натрия и калия, и индекс сопротивления почек; (5) изменения уровней сывороточного альбумина, липидов и других клинических и лабораторных параметров.

Исходы безопасности включают серьезные и несерьезные неблагоприятные события, включая острые реакции во время инфузии экулизумаба, случаи инфекции (включая менингоэнцефалит).

Данные исхода и стоимость лечения используют для анализов стоимости/эффективности.

5. Способы

Способы для расширенного исследования Eagle отражают способы, используемые в исследовании Eagle (см. пример 1).

6. Исследуемый лекарственный препарат (ИМР)

ИМР и способ введения для расширенного исследования Eagle отражают используемые в исследовании Eagle (см. пример 1).

Режим дозирования для взрослых пациентов (в возрасте ≥ 18 лет) состоит из 4-недельной начальной фазы (900 мг экулизумаба посредством 25-45-минутной внутривенной инфузии каждую неделю в течение первых 4 недель) с последующими фазой поддержания (1200 мг экулизумаба, введенных посредством 25-45-минутной внутривенной инфузии в течение пятой недели, с последующими 1200 мг экулизумаба, введенных посредством 25-45-минутной внутривенной инфузии каждые 14 ± 2 суток).

Для пациентов детского возраста (менее 18 лет), режим дозирования экулизумаба состоит из:

Таблица 20: Режим дозирования для пациентов детского возраста

Масса тела пациента	Начальная фаза	Фаза поддержания
≥ 40 кг	900 мг один раз в неделю x 4	1200 мг на неделе 5; затем 1200 мг каждые 2 недели
30 - <40 кг	600 мг один раз в неделю x 2	900 мг на неделе 3; затем 900 мг каждые 2 недели
20 - <30 кг	600 мг один раз в неделю x 2	600 мг на неделе 3; затем 600 мг каждые 2 недели
10 - <20 кг	600 мг один раз в неделю x 1	300 мг на неделе 2; затем 300 мг каждые 2 недели
5 - <10 кг	300 мг один раз в неделю x 1	300 мг на неделе 2; затем 300 мг каждые 3 недели

7. Статистические способы

Статистические способы для расширенного исследования Eagle отражают способы, используемые в исследовании Eagle (см. пример 1).

8. Исключение пациентов

Протокол исключения для расширенного исследования Eagle отражает протокол, описанный в исследовании Eagle (см. пример 1).

9. Преждевременное прекращение исследования

Протокол преждевременного прекращения для расширенного исследования Eagle отражает протокол, описанный в исследовании Eagle (см. пример 1).

10. Неблагоприятные события

Критерии неблагоприятного события для расширенного исследования Eagle отражают критерии, описанные в исследовании Eagle (см. пример 1).

ПРИМЕР 4: Результаты расширения «исследования Eagle»

Расширенное исследование проводили в основном в соответствии с протоколом, описанным выше в примере 3.

1. Участники исследования

Участников исследования идентифицировали среди пациентов, зарегистрированных в Итальянском регистре MPGN научно-клинического центра (CRC) редких заболеваний «Aldo e Cele Daccò» в IRCCS-Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario отр.ri of Bergamo, в Италии. Субъектов, имеющих подтвержденный по биопсии MPGN с выведением креатинина >20 мл/мин на $1,73 \text{ м}^2$, протеинурией, постоянно превышающей $3,5 \text{ г/24-часа}$, у взрослых или 40 мг/час/м^2 (или с соотношением белок/креатинин 2 мг/мг в образцах разовой порции мочи) у детей, уровнями сывороточного C3 ниже нижнего предела нормального диапазона и уровнями сывороточного sC5b9, превышающими 1000 нг/мл (уровень, превышающий среднее $+10 \text{ SD}$ из значений для здоровых контрольных индивидуумов в настоящем исследовании) включали в по меньшей мере два последовательных измерения. Пациентов в возрасте ≥ 75 лет, пациентов с доказательством вторичного MPGN, со слишком тяжелыми хроническими гистологическими изменениями почки, для которых не ожидали влияния исследуемого лечения, со стероидной или иммуносупрессивной терапией в течение последних шести месяцев, или с любым клинически значимым состоянием, для которого ожидали влияние на завершение участия в исследовании и/или искажение результатов исследования, исключали. Критерии исключения включали неспособность понять потенциальные риски и преимущества исследования, и ограничение дееспособности пациентов или их родителей или опекунов. Беременных или кормящих женщин или женщин с репродуктивным потенциалом в отсутствие эффективной контрацепции не включали. Включенным пациентам вводили конъюгированную тетравалентную менингококковую вакцину против серотипов A, C, Y и W135, и моновалентную вакцину против серотипа B, по меньшей мере за две недели до первой инфузии экулизумаба.

С 4 марта 2014 г. по 7 января 2015 г., включено десять пациентов (шесть мужчин и четыре женщины) из шести центров, как показано на фигуре 2. Шесть пациентов имели IC-MPGN, и четыре имели C3GN. Одна гетерозиготная мутация p.D1625N в гене C3 и одна гомозиготная мутация p.R78G в CFH идентифицированы у двух пациентов с C3GN,

соответственно. Нефритические факторы С3 наблюдали у шести пациентов: трех с IC-MPGN и трех с C3GN. Возраст при включении лежал в диапазоне от 13 до 33 лет, и пять пациентов были несовершеннолетними. Исходные характеристики пациентов с IC-MPGN и C3GN являлись сходными, как показано в таблице 21. Ни одного пациента не подвергали иммуносупрессивному лечению.

Таблица 21: Исходные характеристики исследуемых пациентов, рассматриваемые в целом (всего) и в соответствии с гистологическим диагнозом (C3GN или IC-MPGN).

	Всего (n=10)	C3GN (n=4)	IC-MPGN (n=6)
Демографические и клинические характеристики			
Возраст (лет)	20,0±6,9	21,7±8,6	18,8±6,1
Пол (М/Ж)	6/4	2/2	4/2
Масса (кг)	59,1±14,6	62,3±18,2	56,9±13,1
ВМІ (кг/м ²)	21,5±3,3	23,3±3,1	20,3±3,0
Систолическое	120,8±13,6	127,9±11,2	116,1±13,7
Диастолическое	74,8±12,8	83,9±9,8	68,8±11,3
Частота пульса	71,4±10,7	71,8±11,4	71,2±11,3
Лабораторные характеристики			
Sc5b9 (нг/мл)	2420 [1915-3330]	3069 [2534-5731]	2107 [1693-2542]
Общий уровень холестерина (мг/дл)	228,4±29,7	236,3±34,2	223,2±28,4
HDL-холестерин (мг/дл)	47,5±12,9	50,0±11,5	45,8±14,6
LDL-холестерин (мг/дл)	148,6±38,7	145,0±50,6	151,0±33,8
Триглицериды (мг/дл)	103,0 [77,0-231,0]	160,5 [67,5-233,5]	103,0 [77,0-145,0]
Глюкоза в крови (ммоль/л)	88,3±10,8	88,8±4,8	88,0±14,0
Гемоглобин (г/дл)	11,3±1,7	10,4±0,6	11,8±1,9
Сывороточный креатинин (мг/дл)	8,3±0,4	8,1±0,4	8,5±0,3
Сывороточный фосфат (мг/дл)	5,5±0,7	5,2±0,7	5,6±0,7
Сывороточный калий (ммоль/л)	4,7±0,7	4,8±1,1	4,7±0,5
Сывороточный кальций (ммоль/л)	0,75 [0,44-1,76]	1,38 [0,75-2,41]	0,47 [0,41-1,60]
Сывороточный альбумин (г/дл)	2,4±0,5	2,1±0,7	2,6±0,3
Сывороточные белки (г/л)	4,6±0,8	4,2±1,0	4,9±0,5

	Всего (n=10)	C3GN (n=4)	IC-MPGN (n=6)
Параметры функции почек			
Измеренная GFR (мл/мин/1,73 м ²)*	78,0 [30,7-91,5]	44,8 [29,0-70,4]	91,5 [78,0-105,9]
Оцененная GFR (мл/мин/1,73 м ²) ^o	139,0 [35,2-263,9]	68,7 [31,4-142,4]	219,9 [57,5-279,9]
Креатинин в моче (мг/24 часа)	1130,7 [903-1644]	1197,1 [769-1962]	1130,7 [1040-1645]
Белок в моче (г/24 часа)	6,1 [4,8-11,6]	9,9 [4,7-14,3]	5,5 [4,8-6,2]
Альбумин в моче (мг/сутки)	3199 [2302-5660]	4625 [2218-6408]	2854 [2302-3334]
Натрий в моче (мЭкв/24 часа)	107,4 [92,5-171,5]	107,4 [94,4-217,6]	125,6 [67,6-171,5]
Фракционное выведение альбумина	237,7 [116,5-580,1]	653,5 [356,9-919,3]	116,5 [85,7-237,7]
Фракционное выведение альбумина	42,3 [22,6-195,8]	292,4 [110,8-412,2]	22,6 [12,9-42,3]
Антигипертензивные средства			
- Диуретики	9 (90%)	4 (100%)	5 (83%)
- Блокаторы	6 (60%)	3 (75%)	3 (50%)
Кальциевые каналопоры			
- Бета-блокаторы	3 (30%)	1 (25%)	2 (33%)
- Ингибиторы ACE	10 (100%)	4 (100%)	6 (100%)
или ARB			
- Уменьшающие уровень липидов			
статистика:			
- Любые	7 (70%)	3 (75%)	4 (67%)
- Статины	7 (70%)	3 (75%)	4 (67%)
- Жирная кислота омега-3	1 (10%)	1 (25%)	0
- Эзетимиб	1 (10%)	0	1 (17%)

* Посредством способа выведения иогексола из плазмы; ° посредством уравнения СКД-EPI. Данные представляют собой средние±SD, медиану [IQR] или счет.

2. Дизайн исследования

Это пилотное, проспективное, открытое, продольное исследование фазы 2 с одной группой было организовано как два 48-недельных периода лечения экулизумабом, разделенных 12-недельным периодом вымывания в контексте дизайна ВЫКЛ-ВКЛ-ВЫКЛ-ВКЛ (см., например, van der Lee JH, et al., J. Clin. Epidemiol. 2008;61:324-30 и

Gupta S, et al., J. Clin. Epidemiol. 2011;64:1085-94). Необязательную, добровольную биопсию почки предлагали при включении и в конце исследования пациентам, которые, по мнению исследователя, не имели противопоказаний для этой процедуры. Все исходные и лабораторные изменения централизовали в CRC. Три последовательных 24-часовых сбора мочи предоставляли для измерения выведения белка, альбумина, натрия, мочевины и фосфата. Регистрировали медиану для трех измерений. Уровни sC5b-9 в плазме, C3 и C4 в сыворотке, и общепринятые лабораторные параметры измеряли утром после голодания в течение ночи. Скорость клубочковой фильтрации (GFR) измеряли посредством способа выведения иогексола из плазмы (см., например, Gaspari F, et al., J. Am. Soc. Nephrol. 1995;6:257-63) и оценивали с использованием основанного на сывороточном креатинине уравнения хронической почечной недостаточности-эпидемиологии (CKD-Epi). Фракционное выведение IgG и альбумина рассчитывали посредством стандартных формул. Затем пациентов переводили в отделение нефрологии в Azienda Socio Sanitaria Territoriale (ASST) Ospedale Papa Giovanni XXIII of Bergamo, где им вводили первую внутривенную инфузию экулизумаба. Взрослым и несовершеннолетним пациентам массой 40 кг или более вводили 900 мг экулизумаба каждую неделю в течение четырех недель (период индукции), 1200 мг на неделю 5 и затем 1200 мг каждые 14 ± 2 суток (период поддержания), вплоть до завершения 48 недель лечения. Режим дозирования лекарственного средства у детей массой от пяти до менее 40 кг показан в таблице 2. Второй идентичный 48-недельный курс лечения начинали после 12-недельной отмены экулизумаба («периода вымывания»).

Клинические и лабораторные параметры, оцененные в исходной точке, централизованно оценивали повторно на неделе 1, 24 и 48 первого периода лечения, через 12 недель после прекращения лечения, и на неделе 24 и 48 второго периода лечения. Те же параметры, за исключением GFR и фракционного выведения альбумина и IgG, оценивали в каждом экспертном центре на неделе 12 и 36 обоих периодов лечения. Уровни sC5b-9 в плазме, и уровни C3 и C4 в сыворотке централизованно оценивали при каждом осмотре исследования. Анализы биопсии почки проводили и оценивали. Систематического изменения диеты или сопутствующих лекарственных средств не позволяли во время исследования.

3. Оценка размера выборки и статистические анализы

Это было пилотное, поисковое исследование очень редкого заболевания, и размер выборки рассчитывали на основании количества потенциально доступных пациентов во время предварительно определенного периода набора приблизительно один год. Непрерывные переменные исхода оценивали с использованием парного t-критерия, знакового рангового критерия Уилкоксона, ANOVA или линейных моделей смешанных эффектов для повторных измерений, которые включали предварительно определенные исходные ковариации, в зависимости от ситуации. Критерий Мак-Немара или критерий хи-квадрат, или точный критерий Фишера использовали для категориальных переменных. Исходные характеристики представляли как числа и проценты, средние и SD, или

медианы и межквартильные диапазоны (IQR). Задачу множественных сравнений решали посредством коррекции Бонферрони. Нормальность для непрерывных переменных оценивали посредством графика Q-Q и теста Шапиро-Уилка. Все значения p являлись двусторонними.

4. Безопасность

Для всех пациентов завершены запланированные инфузии. Для пациента с прогрессированием до ESRD остановлено введение экулизумаба на первом сеансе диализа. Всего, присутствовали острые реакции во время восьми из 69 инфузий экулизумаба (11,6%). Во всех случаях, восстановление после симптомов происходило спонтанно и без последствий. Острая боль в груди и тошнота возникли у одного пациента во время первой инфузии. Пациенту не требовалась госпитализация, и событие рассматривали как несерьезное. Головная боль с расфокусированным зрением и преходящей временной гемианопсией возникла у того же самого пациента на неделе 20 первого периода лечения. Пациента госпитализировали на одни сутки, и событие отнесли к категории серьезных. Пять других приступов головной боли, один с расфокусированным зрением, и один случай гипотензии наблюдали во время инфузии экулизумаба. Все события являлись несерьезными. Во время периода вымывания одного пациента госпитализировали из-за пневмококковой пневмонии, ассоциированной с преходящим ухудшением функции почек. Событие сочли серьезным и связанным с лечением. Пациент достиг полного восстановления с использованием противомикробной терапии.

Во время вымывания, протеинурия увеличивалась у всех пациентов. В соответствии с предварительно определенным в руководстве протоколом, лечение экулизумабом предусматривали для трех пациентов из-за ухудшения функции почек.

5. Исходы/результаты

Первичным исходом эффективности являлось 24-часовое выделение белка в моче на 24 и 48 неделе первого периода лечения. Уровни sC5b-9 в плазме измеряли для мониторинга активности пути терминального комплекса комплемента. GFR и фракционное выведение альбумина и IgG, и прогрессирование до полной (24-часовой протеинурии $<0,3$ грамм) или частичной (24- часовая протеинурии $<3,5$ грамм с $>50\%$ уменьшением от исходного) ремиссии нефротического синдрома присутствовали среди вторичных исходов.

На фигуре 7 показаны изменения клинических и лабораторных параметров во время двух периодов лечения экулизумабом (от недели 0a до недели 48a и от недели 0b до недели 48b) и периода вымывания (от недели 48a до недели 0b), по сравнению с исходными. Результаты анализов уровней сывороточного C5b9 также приведены в таблице 22 и на фигуре 3A, вместе с данными первичной переменной эффективности, 24- часового выделения белка в моче (см. таблицы 23-25 и фигуру 3B) и других ключевых переменных эффективности, включая 24-часовое выделение альбумина в моче (таблицы 26-27 и фигура 4A), измеренную скорость клубочковой фильтрации (GFR) (таблицы 28-29 и фигура 4B), фракционное выведение альбумина и IgG (таблицы 30-31), сывороточный

креатинин (таблица 32), альбумин (таблица 33), общий уровень белка (таблица 34), общий уровень холестерина, уровни LDL- и HDL-холестерина (таблицы 35-37), триглицеридов (таблица 38), и систолическое и диастолическое кровяное давление (таблицы 39-40).

Уровни сывороточного C5b9, 24-часовое выделение белка в моче, 24-часовое выделение альбумина в моче, и измеренная скорость клубочковой фильтрации для одного очевидного «не отвечающего пациента» показаны на фигурах 5А, 5В, 6А, и 6В, соответственно. Гистология для «не отвечающего пациента» показана на фигурах 8А-8Д.

На фигуре 9 показана оцененная (eGFR) и измеренная (mGFR) скорости клубочковой фильтрации на протяжении курса лечения (1 год), восстановления (3 месяца) и фазы продления (1 год) для подвергнутых лечению с использованием экулизумаба пациентов.

Таблица 22: Сывороточный sC5b9 (нг/мл)

Осмот	Период	N	Среднее	SD	SE	Медиана	IQR	Мин	Макс
V01	Исходный, 1год	10	3099,4	2072,6	655,4	2420,2	1915,7-3330,6	987,9	8130,5
V02	1 неделя	10	186,9	82,4	26,0	176,7**	114,4-206,6	86,2	347,9
V09	12 недель	10	423,5	347,7	110,0	345,2**	264,4-395,6	139,9	1387,0
V15	24 недели	10	304,3	102,4	32,4	289,4**	224,9-377,5	174,1	474,7
V21	36 недель	10	268,5	165,1	52,2	206,2**	132,3-418,3	108,9	527,5
V27	48 недель - R	10	213,9	106,1	33,5	188,1**	147,0-262,3	106,2	469,9
V31	R - Исходный, 2 года	9	2423,0	1628,0	542,7	1938,4 ^{oo}	1722,8-2423,5	1034,4	6441,4
V35	2 недели	9	233,5	122,9	41,0	217,2**	130,8-318,2	103,4	415,4
V39	12 недель	9	415,7	638,3	212,8	221,4**	161,5-237,5	135,4	2110,5
V45	24 недели	10	188,8	114,9	36,3	141,9**	118,8-251,8	88,9	454,3

t-критерий Стьюдента: *p < 0,05 **p < 0,01 по сравнению с исходным; ^op < 0,05 ^{oo}p < 0,01, по сравнению с началом восстановления

Таблица 23: 24-час выделение белка в моче (грамм), индивидуальные пациенты

No пациента, диагноз, NeF*	0a	1a	12a	24a	36a	48a	0b	12b	24b	36b	48b
A, IC-MPGN, пол.	3,83	2,96	4,78	4,06	2,23	3,09	5,83	4,22	3,40	3,77	3,81
B, C3GN, пол.	14,82	14,80	5,36	4,40	5,42	5,38	8,57	7,80	6,44	7,39	8,86

C, IC-MPGN, отр.	6,19	3,85	4,90	3,43	3,25	5,58	13,65	5,46	8,23	9,93	16,24
D, IC-MPGN, пол.	4,95	1,68	2,25	1,12	1,21	0,92	3,98	2,38	2,07	0,62	1,80
E, C3GN, пол.	13,72	11,86	8,02	7,85	5,64	8,54	9,49	6,83	13,41	-	-
F, IC-MPGN, пол.	12,41	12,66	5,96	5,04	5,51	8,03	8,22	7,88	8,10	6,43	8,43
G, IC-MPGN, отр.	6,00	4,93	3,63	3,17	5,05	5,75	10,67	7,24	7,25	6,89	7,79
H, C3GN, отр.	6,06	5,17	4,87	3,36	3,10	3,94	4,04	2,05	1,85	2,18	1,32
I, C3GN, пол.	3,28	4,00	4,29	4,35	3,53	4,73	5,42	5,75	5,51	10,13	8,14
J, IC-MPGN, отр.	4,84	3,61	2,41	2,77	3,34	2,13	4,26	1,89	5,67	5,61	2,12
Среднее±SD	7,61±4,31	6,55±4,68	4,65±1,69	3,95±1,74	3,83±1,52	4,81±2,41	7,41±3,26	5,15±2,38	6,19±3,42	5,88±3,24	6,50±4,80
P (t-критерий Стьюдента)	-	0,0464*	0,0223*	0,0051**	0,0003**	0,0256*	0,4579	0,1602	0,5280	0,8615	0,8040
Медиана [IQR]	6,03 [4,9;10,9]	4,47 [3,6;11,9]	4,83 [3,8; 5,3]	3,74 [3,2; 4,4]	3,44 [3,1; 5,3]	5,06 [3,3; 5,7]	7,02 [4,6; 9,3]	5,60 [2,8; 7,1]	6,06 [3,9; 7,9]	6,43 [3,8; 7,4]	7,79 [2,1; 8,4]
P (знаковый ранговый критерий)	-	0,0488*	0,0371*	0,0098**	0,0039**	0,0371*	0,5566	0,1934	0,5566	0,8203	0,7344

Недели

Nef=нефритический фактор. пол. = положительный; отр. = отрицательный

Таблица 24: 24-час выделение белка в моче (грамм)

Осмот	Период	N	Среднее	SD	SE	Медиана	IQR	Мин	Макс
V01	Исходный, 1 год	10	7,61	4,31	1,36	6,03	4,84-12,41	3,28	14,82
V02	1 неделя	10	6,55*	4,68	1,48	4,47	3,61-11,86	1,68	14,80
V09	12 недель	10	4,65*	1,69	0,53	4,83	3,63-5,36	2,25	8,02
V15	24 недели	10	3,95**	1,74	0,55	3,74	3,17-4,40	1,12	7,85
V21	36 недель	10	3,83**	1,52	0,48	3,44	3,10-5,42	1,21	5,64
V27	48 недель - R	10	4,81*	2,41	0,76	5,06	3,09-5,75	0,92	8,54
V31	R - Исходный, 2 года	10	7,41 ^{°°}	3,26	1,03	7,02	4,26-9,49	3,98	13,65
V35	2 недели	10	5,51	3,12	0,99	6,03	2,43-6,93	1,61	12,08
V39	12 недель	10	5,15*	2,38	0,75	5,60	2,38-7,24	1,89	7,88
V45	24 недели	10	6,19	3,42	1,08	6,06	3,40-8,10	1,85	13,41

t-критерий Стьюдента: *p < 0,05 **p < 0,01 по сравнению с исходным; °p < 0,05 °°p < 0,01, по сравнению с началом восстановления

Таблица 25: 24-час выделение белка в моче (грамм)

Осмот	Период	N	Среднее	SD	SE	Медиана	IQR	Мин	Макс
V01	Исходный, 1 год	10	7,52	4,07	1,29	6,12	4,84-11,63	3,30	14,55
V02	1 неделя	10	6,59	4,77	1,51	4,51	3,43-11,41	1,98	16,08
V09	12 недель	10	4,54*	1,78	0,56	4,52	2,96-5,36	2,27	8,02
V15	24 недели	10	3,77**	1,79	0,56	3,66	2,73-4,40	1,01	7,85
V21	36 недель	10	3,87**	1,52	0,48	3,72	3,36-5,40	1,00	5,64
V27	48 недель - R	10	4,93*	2,48	0,79	4,93	3,16-6,06	1,18	9,03
V31	R - Исходный, 2 года	10	7,48 [°]	3,33	1,05	6,71	4,31-9,49	4,02	13,82
V35	2 недель	10	5,70	3,14	0,99	6,15	2,54-6,93	1,58	12,08
V39	12 недель	10	5,03*	2,41	0,76	5,89	2,38-6,83	1,89	7,88
V45	24 недели	10	6,31	3,60	1,14	6,80	3,12-8,03	1,34	13,29

t-критерий Стьюдента: *p < 0,05 **p < 0,01 по сравнению с исходным; °p < 0,05 °°p < 0,01, по сравнению с началом восстановления

Таблица 26: 24-час выделение альбумина в моче (мг)

Осмот	Период	N	Средне	SD	SE	Медиана	IQR	Мин	Макс
V01	Исходный, 1 год	10	3726,6	1950,1	616,7	3133,7	2433,0-6069,0	1339,3	6781,0

V02	1 неделя	10	3216,6	2106,0	666,0	2512,3*	1716,7- 5494,3	904,0	6953,3
V09	12 недель	9	2851,4	1046,6	348,9	2831,7	2024,3- 3509,3	1274,3	4645,0
V15	24 недели	10	1952,2	749,4	237,0	1996,2**	1611,7- 2115,3	568,3	3536,5
V21	36 недель	8	1833,0	779,7	275,7	1820,8*	1401,0- 2349,6	499,5	3021,5
V27	48 недель - R	10	2490,1	1202,3	380,2	2683,0*	1575,3- 3461,3	469,0	4117,7
V31	R - Исходный, 2 года	8	3429,3	1731,9	612,3	3218,0°	1833,8- 4520,5	1700,0	6589,7
V35	2 недель	8	2699,8	1668,2	589,8	2501,8	1371,8- 3814,8	630,6	5591,0
V39	12 недель	7	2068,0	1031,8	390,0	1972,0*	915,5- 2843,8	899,7	3592,7
V45	24 недели	9	3011,3	1481,7	493,9	3266,7*	1707,3- 3705,0	819,3	5594,3

t-критерий Стьюдента: *p < 0,05 **p < 0,01 по сравнению с исходным; °p < 0,05
°°p < 0,01, по сравнению с началом восстановления

Таблица 27: 24-час выделение альбумина в моче (мг)

Осмотр	Период	N	Средне	SD	SE	Медиан	IQR	Мин	Макс
V01	Исходный, 1 год	10	3623,7	1877,7	593,8	3199,0	2302,0-5660,0	1238,0	6765,0
V02	1 неделя	10	3279,5	2135,8	675,4	2609,0	1710,0-5005,0	1086,0	7505,0
V09	12 недель	9	2968,8	1180,4	393,5	2961,0	1993,0-3770,8	1127,0	4645,0
V15	24 недели	10	1861,0	753,9	238,4	1919,5**	1386,0-2020,0	622,0	3536,5
V21	36 недель	8	1855,1	780,1	275,8	1920,5*	1406,5-2332,7	499,5	3021,5
V27	48 недель - R	10	2553,9	1223,5	386,9	2684,5*	1707,0-3773,0	592,0	4129,0
R -									
V31	Исходный, 2 года	8	3357,1	1739,4	615,0	2838,5°	1890,5-4491,0	1745,0	6672,0
V35	2 недель	8	2833,6	1704,5	602,6	2730,0	1411,5-4087,9	618,8	5591,0
V39	12 недель	7	2002,4	1065,3	402,6	1512,8*	915,5-3081,0	906,0	3213,0
V45	24 недели	9	3066,6	1477,9	492,6	3391,0	1903,0-3969,0	778,0	5440,0

t-критерий Стьюдента: *p < 0,05 **p < 0,01 по сравнению с исходным; °p < 0,05 °°p < 0,01, по сравнению с началом восстановления

Таблица 28: Скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м²)

Осмотр	Период	N	Среднее	SD	SE	Медиана	IQR	Мин	Макс
p									
V01	Исходный, 1 год	9	62,7	30,1	10,0	65,3	34,8-79,8	23,8	119,1
V02	1 неделя	9	68,0	30,4	10,1	78,0	36,5-89,5	23,3	108,3
V15	24 недели	9	76,0*	37,8	12,6	74,5	42,2-97,6	22,0	133,7
V27	48 недель - R	9	79,9	47,8	15,9	82,4	29,5-109,8	21,1	150,9
V31	R - Исходный, 2 года	8	70,5°	38,2	13,5	71,3	38,8-104,8	17,6	116,9
V45	24 недели	8	68,1	44,4	15,7	69,6	25,9-98,1	17,1	140,5

t-критерий Стьюдента: *p < 0,05 **p < 0,01 по сравнению с исходной; °p < 0,05 °°p < 0,01, по сравнению с началом восстановления

Таблица 29: Скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м²), норма

Осмотр	Период	N	Среднее	SD	SE	Медиана	IQR	Мин	Макс
V01	Исходный, 1 год	9	69,7	35,2	11,7	78,0	30,7-91,5	27,3	123,4
V02	1 неделя	9	76,5	38,2	12,7	83,1	32,7-112,2	26,9	122,8
V15	24 недели	9	83,3*	43,9	14,6	90,1	37,7-123,3	25,3	137,9
V27	48 недель - R	9	87,4	55,1	18,4	80,1	29,2-137,7	24,2	164,4
V31	R - Исходный, 2 года	8	75,8°	42,7	15,1	75,8	38,5-110,2	20,1	137,5
V45	24 недели	8	71,2	48,6	17,2	69,9	24,4-102,9	19,7	155,8

t-критерий Стьюдента: *p < 0,05 **p < 0,01 по сравнению с исходной; °p < 0,05 °°p < 0,01, по сравнению с началом восстановления

Таблица 30: Фракционное выведение альбумина

Осмотр	Период	N	Среднее	SD	SE	Медиана	IQR	Мин	Макс
V01	Исходный, 1 год	9	384,6	358,4	119,5	237,7	116,5-580,1	72,3	1111,7
V02	1 неделя	9	276,4	254,0	84,7	125,7**	75,8-431,9	38,9	737,0
V15	24 недели	9	116,4	87,2	29,1	84,5**	60,3-139,9	14,8	279,2
V27	48 недель - R	8	183,9	176,0	62,2	170,7*	25,4-264,1	18,3	532,5
V31	R - Исходный, 2 года	7	309,3	295,7	111,8	243,3°	92,6-435,8	62,2	901,7
V45	24 недели	7	328,0	272,7	103,1	252,3	60,7-448,5	59,0	851,4

t-критерий Стьюдента: *p < 0,05 **p < 0,01 по сравнению с исходным; °p < 0,05
 °°p < 0,01, по сравнению с началом восстановления

Таблица 31: Фракционное выведение IgG

Осмотр	Период	N	Среднее	SD	SE	Медиана	IQR	Мин	Макс
р									
V01	Исходный, 1 год	9	139,0	166,7	55,6	42,3	22,6-195,8	10,3	435,5
V02	1 неделя	9	85,4	96,6	32,2	24,7**	13,4-144,5	3,9	250,5
V15	24 недели	9	31,7	36,7	12,2	14,6**	12,7-28,4	4,0	120,6
V27	48 недель - R	8	51,1	64,6	22,9	32,0	4,9-68,1	3,0	196,0
V31	R - Исходный, 2 года	7	111,0	150,7	57,0	50,3°	16,9-148,5	8,7	433,0
V45	24 недели	7	131,4	198,5	75,0	59,1	12,4-137,7	7,0	570,6

t-критерий Стьюдента: *p < 0,05 **p < 0,01 по сравнению с исходным; °p < 0,05
 °°p < 0,01, по сравнению с началом восстановления

Таблица 32: Сывороточный креатинин (мг/дл)

Осмотр	Период	N	Среднее	SD	SE	Медиана	IQR	Мин	Макс
V01	Исходный, 1 год	10	1,21	0,97	0,31	0,75	0,44-1,76	0,36	3,05
V02	1 неделя	10	1,13	0,89	0,28	0,73	0,44-1,69	0,25	2,84
V09	12 недель	10	1,06	0,81	0,26	0,68	0,41-1,88	0,31	2,40
V15	24 недели	10	1,07	0,84	0,26	0,69	0,43-1,88	0,32	2,63
V21	36 недель	10	1,12	1,02	0,32	0,61	0,38-1,99	0,31	3,20
V27	48 недель - R	10	1,21	1,09	0,34	0,68	0,44-1,95	0,38	3,72
V31	R - Исходный, 2 года	10	1,68	1,79	0,57	0,92	0,53-2,11	0,38	5,90
V35	2 недель	10	1,35	1,20	0,38	0,75	0,48-2,10	0,39	4,00
V39	12 недель	10	1,45	1,20	0,38	1,20	0,43-2,03	0,38	4,10
V45	24 недели	10	1,54	1,66	0,53	0,79	0,50-2,22	0,37	5,75

t-критерий Стьюдента: *p < 0,05 **p < 0,01 по сравнению с исходным; °p < 0,05
 °°p < 0,01, по сравнению с началом восстановления

Таблица 33: Сывороточный альбумин (г/дл)

Осмотр	Период	N	Среднее	SD	SE	Медиана	IQR	Мин	Макс
V01	Исходный, 1 год	10	2,29	0,53	0,17	2,36	2,20-2,65	1,00	2,83
V02	1 неделя	10	2,39	0,57	0,18	2,44	2,23-2,80	1,00	3,00
V09	12 недель	9	2,85**	0,51	0,17	2,90	2,58-3,19	2,04	3,60
V15	24 недели	10	2,72**	0,32	0,10	2,79	2,54-2,95	2,07	3,13
V21	36 недель	10	2,83*	0,47	0,15	2,71	2,47-3,30	2,15	3,50

V27	48 недель - R	10	2,61	0,49	0,15	2,70	2,26-3,05	1,70	3,20
V31	R - Исходный, 2 года	10	2,48	0,63	0,20	2,38	1,91-3,00	1,77	3,70
V35	2 недель	10	2,70*	0,60	0,19	2,52	2,19-3,10	2,05	3,66
V39	12 недель	10	2,71*	0,61	0,19	2,78	2,23-3,11	1,68	3,60
V45	24 недели	10	2,53	0,62	0,20	2,35	1,99-2,90	1,94	3,72

t-критерий Стьюдента: *p < 0,05 **p < 0,01 по сравнению с исходным; °p < 0,05 °°p < 0,01, по сравнению с началом восстановления

Таблица 34: Сывороточный белок (г/дл)

Осмот	Период	N	Среднее	SD	SE	Медиана	IQR	Мин	Макс
V01	Исходный, 1 год	10	4,56	0,77	0,24	4,65	4,40-5,20	2,80	5,40
V02	1 неделя	10	4,87	0,76	0,24	4,95	4,60-5,20	3,00	5,90
V09	12 недель	10	5,33**	0,54	0,17	5,25	4,90-5,80	4,50	6,10
V15	24 недели	10	5,18**	0,44	0,14	5,15	4,90-5,50	4,30	5,80
V21	36 недель	10	5,22*	0,63	0,20	5,30	4,70-5,70	4,30	6,10
V27	48 недель - R	10	4,91	0,62	0,20	5,05	4,40-5,30	3,80	5,90
V31	R - Исходный, 2 года	10	4,64	0,86	0,27	4,45	4,00-5,40	3,60	6,10
V35	2 недель	10	5,22**	0,85	0,27	5,20	4,40-5,90	3,90	6,30
V39	12 недель	10	5,13*	0,67	0,21	5,25	4,30-5,70	4,30	6,10
V45	24 недели	10	4,90	0,88	0,28	4,70	4,10-5,70	4,00	6,50

t-критерий Стьюдента: *p < 0,05 **p < 0,01 по сравнению с исходным; °p < 0,05 °°p < 0,01, по сравнению с началом восстановления

Таблица 35: Общий уровень холестерина (мг/дл)

Осмот	Период	N	Среднее	SD	SE	Медиана	IQR	Мин	Макс
V01	Исходный, 1 год	10	228,4	29,7	9,4	234,0	198,0-241,0	191,0	280,0
V02	1 неделя	10	231,9	55,9	17,7	236,0	190,0-246,0	150,0	357,0
V09	12 недель	10	204,0**	33,5	10,6	194,5	177,0-236,0	160,0	257,0
V15	24 недели	10	184,0**	43,0	13,6	179,0	150,0-207,0	137,0	276,0
V21	36 недель	10	183,4**	26,9	8,5	179,5	164,0-215,0	138,0	216,0
V27	48 недель - R	10	215,1	83,3	26,3	184,0	164,0-245,0	144,0	429,0
V31	R - Исходный, 2 года	10	241,7	51,2	16,2	229,5	211,0-285,0	170,0	327,0
V35	2 недель	10	259,3	95,5	30,2	241,5	195,0-301,0	154,0	490,0
V39	12 недель	10	238,2	59,3	18,8	237,0	191,0-275,0	146,0	326,0
V45	24 недели	10	221,2	62,5	19,8	217,5	176,0-261,0	125,0	341,0

t-критерий Стьюдента: *p < 0,05 **p < 0,01 по сравнению с исходным; °p < 0,05
 °°p < 0,01, по сравнению с началом восстановления

Таблица 36: HDL-холестерин (мг/дл)

Осмот	Период	N	Среднее	SD	SE	Медиана	IQR	Мин	Макс
V01	Исходный, 1 год	10	47,5	12,9	4,1	44,0	41,0-54,0	24,0	68,0
V02	1 неделя	10	55,2	34,1	10,8	45,0	39,0-51,0	32,0	149,0
V09	12 недель	10	54,5	19,8	6,3	51,0	44,0-63,0	27,0	101,0
V15	24 недели	10	49,0	12,9	4,1	46,5	39,0-59,0	31,0	72,0
V21	36 недель	10	53,3	22,8	7,2	49,5	42,0-63,0	26,0	109,0
V27	48 недель - R	10	48,4	15,7	4,9	49,0	35,0-52,0	28,0	76,0
V31	R - Исходный, 2 года	10	48,3	19,1	6,0	48,0	29,0-62,0	25,0	84,0
V35	2 недель	10	53,3	24,4	7,7	51,5	37,8-62,0	17,0	109,0
V39	12 недель	10	51,1	24,3	7,7	49,0	32,8-59,0	23,0	106,0
V45	24 недели	10	42,8	16,1	5,1	39,5	30,0-53,0	22,0	78,0

t-критерий Стьюдента: *p < 0,05 **p < 0,01 по сравнению с исходным; °p < 0,05
 °°p < 0,01, по сравнению с началом восстановления

Таблица 37: LDL-холестерин (мг/дл)

Осмот	Период	N	Среднее	SD	SE	Медиана	IQR	Мин	Макс
V01	Исходный, 1 год	10	148,6	38,7	12,2	132,5	113,0-179,0	111,0	219,0
V02	1 неделя	10	148,0	60,5	19,1	136,0	105,0-193,0	54,0	251,0
V09	12 недель	9	121,1*	38,1	12,7	116,0	95,0-150,0	65,0	185,0
V15	24 недели	10	111,9**	49,7	15,7	101,5	66,0-125,0	59,0	215,0
V21	36 недель	7	102,4*	31,1	11,8	112,0	72,0-134,0	59,0	135,0
V27	48 недель - R	10	135,6	76,4	24,1	113,5	86,0-160,0	64,0	324,0
V31	R - Исходный, 2 года	9	146,7	47,6	15,9	164,0	112,0-175,0	64,0	216,0
V35	2 недель	9	155,2	62,5	20,8	133,0	112,0-177,0	88,0	280,0
V39	12 недель	9	151,3	59,0	19,6	128,0	106,0-189,0	77,8	251,0
V45	24 недели	10	140,7	51,8	16,4	142,0	91,0-174,0	79,0	218,0

t-критерий Стьюдента: *p < 0,05 **p < 0,01 по сравнению с исходным; °p < 0,05
 °°p < 0,01, по сравнению с началом восстановления

Таблица 38: Триглицериды (мг/дл)

Осмот	Период	N	Среднее	SD	SE	Медиана	IQR	Мин	Макс
V01	Исходный, 1 год	10	136,2	84,6	26,7	103,0	77,0-231,0	45,0	283,0
V02	1 неделя	10	122,8	61,6	19,5	107,0	89,0-153,0	48,0	265,0
V09	12 недель	10	121,2	44,0	13,9	112,0	101,0-156,0	42,0	195,0

Осмот	Период	N	Среднее	SD	SE	Медиана	IQR	Мин	Макс
V15	24 недели	10	114,7	61,5	19,5	112,5	52,0-142,0	51,0	221,0
V21	36 недель	10	113,3	68,8	21,7	118,0	51,0-154,0	32,0	238,0
V27	48 недель - R	10	117,9	70,3	22,2	109,0	58,0-158,0	37,0	256,0
V31	R - Исходный, 2 года	10	134,2	102,8	32,5	112,5	69,0-158,0	27,0	393,0
V35	2 недель	10	182,8	103,2	32,6	159,5	84,0-296,0	74,0	342,0
V39	12 недель	10	151,4	88,0	27,8	114,0	91,0-215,0	45,0	296,0
V45	24 недели	10	118,0	51,2	16,2	117,5	80,0-156,0	41,0	206,0

t-критерий Стьюдента: *p < 0,05 **p < 0,01 по сравнению с исходным; °p < 0,05 °°p < 0,01, по сравнению с началом восстановления

Таблица 39: Систолическое кровяное давление (мм рт. ст.)

Осмот	Период	N	Среднее	SD	SE	Медиана	IQR	Мин	Макс
V01	Исходный, 1 год	10	120,8	13,6	4,3	124,0	112,0-131,7	98,0	138,0
V02	1 неделя	10	115,8*	13,3	4,2	115,2	108,0-126,0	91,7	136,0
V09	12 недель	10	116,8	16,6	5,3	111,2	106,7-123,0	94,3	150,7
V15	24 недели	10	115,9	16,5	5,2	116,2	104,3-134,0	87,7	138,3
V21	36 недель	10	114,3*	12,1	3,8	114,3	105,3-121,3	95,0	136,0
V27	48 недель - R	10	118,4	13,2	4,2	116,5	106,7-126,7	102,7	143,0
V31	R - Исходный, 2 года	9	125,0	16,5	5,5	120,0	115,0-135,0	103,0	149,0
V35	2 недель	10	116,5	8,9	2,8	115,5	113,0-120,0	100,0	132,0
V39	12 недель	10	119,2	12,8	4,0	120,0	107,0-131,0	97,0	133,0
V45	24 недели	10	118,7	10,9	3,5	118,0	115,0-122,0	98,0	143,0

t-критерий Стьюдента: *p < 0,05 **p < 0,01 по сравнению с исходным; °p < 0,05 °°p < 0,01, по сравнению с началом восстановления

Таблица 40: Диастолическое кровяное давление (мм рт. ст.)

Осмот	Период	N	Среднее	SD	SE	Медиана	IQR	Мин	Макс
V01	Исходный, 1 год	10	74,8	12,8	4,0	75,5	61,0-84,3	55,3	92,3
V02	1 неделя	10	73,7	11,8	3,7	75,2	64,3-80,7	54,7	91,7
V09	12 недель	10	73,7	13,9	4,4	70,9	63,3-79,3	59,7	103,3
V15	24 недели	10	72,4	10,4	3,3	72,7	63,0-79,0	60,0	89,3
V21	36 недель	10	70,6	9,0	2,8	72,0	63,7-76,7	56,3	84,7
V27	48 недель - R	10	74,5	15,5	4,9	74,7	66,7-86,7	43,7	97,0
V31	R - Исходный, 2 года	9	77,5	17,2	5,7	75,0	69,0-89,0	46,0	102,0

V35	2 недель	10	69,4*	15,8	5,0	75,2	58,0-83,0	42,7	89,0
V39	12 недель	10	73,4	11,7	3,7	72,0	70,0-83,0	47,0	87,0
V45	24 недели	10	75,4	8,7	2,7	77,0	69,0-78,0	62,0	94,0

t-критерий Стьюдента: * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ по сравнению с исходным; ° $p < 0,05$ °° $p < 0,01$, по сравнению с началом восстановления

Масса тела, BMI и кровяное давление были относительно стабильными на протяжении исследования.

Уровни sC5b-9 в плазме, которые являлись необычайно увеличенными при включении, быстро и постоянно нормализовались во время первого 48-недельного периода лечения, восстанавливались до исходных значений в конце периода вымывания и снова нормализовались во время второго 48-недельного периода лечения, вплоть до окончания исследования (фигура 3А и фигура 7). Несмотря на преходящее увеличение в конце периода вымывания, уровни сывороточного С3 являлись постоянно уменьшенными на протяжении всего периода исследования. Уровни сывороточного С4 являлись стабильными и всегда лежали в нормальном диапазоне.

Протеинурия значительно уменьшалась во время первого периода лечения и резко увеличивалась до исходных значений в конце периода вымывания. Эта тенденция к увеличению останавливалась и обращалась во время второго периода лечения, но уменьшение протеинурии никогда не достигало номинальной значимости, вплоть до окончания исследования (фигура 3А, фигура 7 и таблица 23). Два пациента достигли частичной ремиссии нефротического синдрома по завершении обоих периодов лечения, и один дополнительный пациент достиг этой конечной точки по завершении второго периода лечения (см. таблицу 23). Альбуминурия и фракционное выведение альбумина и IgG изменялись параллельно изменению протеинурии (см. фигуру 7). В соответствии с этим, уровень сывороточного альбумина и общий уровень белка увеличивались во время первого периода лечения, немного уменьшались во время периода вымывания и значимо не отличались от исходных во время второго периода лечения (фигуры 4 и 7). Общий уровень холестерина, уровни LDL- и LDL/HDL-холестерина значимо уменьшались во время первого периода лечения, восстанавливались до исходных значений во время периода вымывания и никогда не отличались от исходных во время второго периода лечения. Уровни сывороточных триглицеридов, так же как 24-часовое выведение с мочой натрия, мочевины и фосфата, являлись стабильными на протяжении исследования.

Измеренная GFR временно увеличивалась на неделе 24 первого периода лечения, уменьшалась до исходных значений после периода вымывания и существенно не отличалась от исходной во время второго периода лечения. Для оцененной GFR показана сходная тенденция, но сильная переоценка истинной GFR.

Добровольная биопсия почки была доступна при включении и в конце исследования от двух пациентов с IC-MPGN. В обоих случаях, по исходной биопсии почки показана исходная гломерулярная лобулярность с умеренной мезангиальной

пролиферацией и экссудативными признаками, включая фокальную тяжелую эндокапиллярную пролиферацию с инфильтрацией нейтрофилов (фигура 10A, 10B, 10C и 10D).

Для «случая А», по исходной биопсии почки показана исходная гломерулярная лобулярность, сегментированное удвоение GBM, умеренная мезангиальная пролиферация и экссудативные признаки, включая фокальную тяжелую эндокапиллярную пролиферацию с инфильтрацией нейтрофилов (фигура 10A - до). Кроме того, для одной гломерулы показана адгезия пучка к капсуле с ассоциированным сегментарным склерозом. Редкие воспалительные инфильтраты наблюдали в интерстиции. Иммунофлуоресцентная оценка показала значительные гломерулярные парietальные отложения C3 и C5b-9 (3+) со сходным паттерном и распределением (фигура 10B - до), вместе с гломерулярными парietальными IgM, IgG и C1q (2+) и менее интенсивными легкими цепями каппа и лямбда (1+). Электронная микроскопия детектировала частые внутримембранные и фокальные субэндотелиальные электроноплотные отложения. Мезангий был расширен из-за накопления рассеянных электроноплотных отложений, увеличения клеточности и матрикса (фигура 10A - до). При повторной биопсии признаки воспаления смягчались, с уменьшением мезангиальной и эндокапиллярной пролиферации, но с увеличением мезангиального матрикса, более акцентированной гломерулярной лобулярностью, множеством точек адгезии к боуеновой капсуле и увеличением сегментарного гломерулярного склероза от 6% в исходной точке до 30%. Редкие интерстициальные воспалительные инфильтраты, наблюдаемые при первой биопсии, заменились фокальным интерстициальным фиброзом и тубулярной атрофией (фигура 10A - после). Интенсивность иммунофлуоресцентного окрашивания для C3 существенно не изменялась при повторной биопсии. И наоборот, медиана (IQR) окрашивания C5b-9 значимо ($p=0,019$) уменьшалась от 15,8% (15,2-16,5%) в исходной точке до 10,7% (8,5-15,0%) при биопсии после лечения (фигура 10B - после). Отложения C1q почти исчезли. При повторной биопсии, внутримембранные и субэндотелиальные отложения были более электроноплотными, чем в исходной точке, GBM имел диффузное удвоение, и изолированные порошкообразные субэндотелиальные отложения появились *de novo* (фигура 10B - после). Присутствовало небольшое увеличение количества мезангиальных отложений.

Для «случая В», по биопсии до лечения показана небольшая мезангиальная пролиферация и диффузная эндокапиллярная пролиферация с заметной инфильтрацией нейтрофилов, придающие расплывчато лобулярный вид гломерулам. Кроме того, присутствовало фокальное умеренное тубулоинтерстициальное воспаление (фигура 10C - до). Иммунофлуоресценция показала диффузные гломерулярные отложения C3 и C5b-9 (3+) со сходным паттерном и распределением, вместе с гломерулярным парietальным окрашиванием IgM слабой интенсивности (1+) (фигура 8D - до). Электронная микроскопия детектировала частые субэндотелиальные электроноплотные отложения, сопровождающиеся фокальным удвоением GBM и нерегулярными внутримембранными

электроноплотными отложениями в виде полос. Мезангий был расширен из-за накопления рассеянных электроноплотных отложений, увеличения клеточности и матрикса (фигура 10C - до). Как наблюдали в вышеупомянутом случае IC-MPGN, при повторной биопсии после лечения показано смягчение признаков воспаления, с уменьшением мезангиальной и эндокапиллярной пролиферации, но с увеличением мезангиального матрикса, более акцентированной гломерулярной лобулярностью, множеством точек адгезии к боуеновой капсуле, с увеличением сегментарного гломерулярного склероза от 15% в исходной точке до 40%) (фигура 8C-после). Тубулоинтерстициальное повреждение существенно не изменялось по сравнению с исходным. Также, паттерн и интенсивность иммунофлуоресцентного окрашивания по C3 и IgM являлись сходными между двумя анализами биопсии. И наоборот, окрашивание по C5b-9 значимо ($p=0,021$) уменьшалось от 23,6% (22,7-24,9%) в исходной точке до 18,22% (14,8-20,6%) при биопсии после лечения (фигура 10D - после). Биопсия после лечения являлась также примечательной по отложению фрагментов IgG и легкой цепи каппа (1+) в гломерулярных капиллярах, и более электроноплотным субэндотелиальным и внутримембранным отложениям, вместе со слабым уменьшением мезангиальных отложений. Некоторые субэндотелиальные отложения имели точечную порошкообразную текстуру, сходную со структурами, описанными в вышеупомянутом случае IC-MPGN. Кроме того, нерегулярные рассеянные электроноплотные отложения идентифицированы в гломерулярной субэпителиальной локализации, в тубулярной базальной мембране и боуеновой капсуле (фигура 10C - после).

6. Обсуждение

Как доказывают данные, описанные выше, экулизумаб полностью ингибировал активность комплемента в жидкой фазе, уменьшал протеинурию, улучшал уровни сывороточного альбумина и стабилизировал GFR на протяжении двух-летнего отслеживания. Однако, эффект лечения полностью истощался во время трех-месячного прекращения лечения (периода восстановления). Кроме того, повторное воздействие экулизумаба после периода восстановления, по-видимому, не являлось таким же эффективным, как начальное лечение.

Тот факт, что изменения активности комплемента в жидкой фазе происходили параллельно с изменениями всех рассматриваемых клинических параметров, обеспечивал убедительное доказательство причинно-следственной связи между индуцированным экулизумабом ингибированием комплемента и эффектом лечения. Предположительно, степень активации комплемента в жидкой фазе отражает активность заболевания и может помогать в прогнозировании ответа на терапию экулизумабом.

Конкретно, у десяти пациентов с сильной активацией пути терминального комплекса комплемента и протеинурией в нефротическом диапазоне, уровни sC5b-9 в плазме быстро и полностью нормализовались во время первого периода лечения экулизумабом, восстанавливались до исходных значений после отмены экулизумаба и снова быстро и постоянно нормализовались во время второго периода лечения. Уровни

сывороточного СЗ являлись постоянно уменьшенными, в то время как уровни С4 лежали в нормальном диапазоне на протяжении всего периода исследования. 24-часовое выделение белка в моче (первичная переменная эффективности исследования) значительно и постоянно уменьшалось во время первого периода лечения и резко увеличивалось до исходного после отмены экулизумаба. Во время второго периода лечения, первое введение экулизумаба останавливало и фактически обращало тенденцию протеинурии к увеличению, наблюдаемую во время периода вымывания. При последующих осмотрах, однако, протеинурия была количественно, но не значимо, ниже, чем в исходной точке. Примечательно, что два пациента достигли частичной ремиссии нефротического синдрома в конце первого периода лечения и, несмотря на рецидив заболевания после отмены экулизумаба, снова достигли частичной ремиссии во время второго периода. Один дополнительный пациент достиг этой конечной точки в конце второго периода лечения. Обнаружение того, что фракционное выведение как альбумина, так и IgG, значительно уменьшалось во время первого периода лечения и восстанавливалось до исходных значений после отмены экулизумаба, обеспечивает убедительное доказательство того, что антипротеинурический эффект экулизумаба был, по меньшей мере частично, опосредован улучшением избирательности гломерулярного барьера для макромолекул плазмы (см., например, Ruggenti P, Cravedi P, Remuzzi G. Mechanisms and treatment of CKD. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:1917-28).

Уменьшение протеинурии, наблюдаемое во время первого периода лечения, являлось ассоциированным с увеличением уровня в сыворотке альбумина и общего уровня белка, и с значительным и клинически значимым уменьшением в сыворотке общего уровня холестерина и уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL). И снова, эти эффекты прекращались после отмены лечения. Масса тела и индекс массы тела, кровяное давление и 24-часовое выведение с мочой натрия, фосфата и мочевины, так же как сопутствующее лечение ингибиторами RAS или статинами, не изменялись на протяжении исследования. Таким образом, облегчение протеинурии и признаков нефротического синдрома во время первого периода лечения, по-видимому, отражало истинный эффект терапии экулизумабом, который с малой вероятностью искажали изменения диеты или сопутствующее лечение.

Таким образом, стратификация на основании уровней в плазме sC5b-9 позволила идентифицировать пациентов с активацией пути терминального комплекса комплемента, которые могут получать преимущество от лечения с использованием блокатора конвертазы C5, такого как экулизумаб. Доказательство эффекта у пациентов с явным нефротическим синдромом может иметь клиническое значение, поскольку они являются пациентами, подверженными наивысшему риску ускоренного прогрессирования до ESRD (см., например, Riedl et al., *Pediatr. Nephrol.* 2017;32:43-57 и Appel GB, et al., *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005;16:1392-403). Облегчение диспротеинемии и дислипидемии можно также переводить в уменьшение избыточного риска сердечно-сосудистых событий, неизменно ассоциированных с нефротическим синдромом (см. Vaziri ND, et al., *Kidney Int.*

2016;90:41-52). С другой стороны, резкое увеличение протеинурии и уровней в плазме sC5b-9, и сопутствующее ухудшение уровней маркеров нефротического синдрома в ходе вымывания после лечения согласуется с возвращением заболевания, потребовавшим предусмотренного начала второго периода лечения у двух пациентов. Обнаружение того, что антипротеинурический эффект экулизумаба был ослаблен после этого возвращения, позволяет предполагать, что лечение не следует останавливать, по меньшей мере у пациентов с доказательством начального клинического преимущества.

Остается вопрос, почему антипротеинурический эффект был ограничен первым периодом лечения. Обнаружение того, что уровни в плазме sC5b-9 были нормализованы во время обоих периодов лечения, разумно исключает возможность того, что ингибирующий эффект экулизумаба на путь терминального комплекса комплемента прогрессивно истощался в ходе исследования. Эта гипотеза согласуется с обнаружением того, что у обоих пациентов, давших добровольное согласие на биопсию почки до и после лечения, гломерулярное окрашивание C5b-9 являлось значительно уменьшенным при повторной биопсии, по сравнению с исходным. Примечательно, что уменьшение отложения C5b-9 являлось ассоциированным с уменьшением гломерулярных очагов воспаления, которые имели тенденцию к замене хроническими изменениями. К сожалению, отсутствуют гистологические данные в конце периода вымывания для оценки того, являлись ли увеличение уровней в плазме sC5b-9 и протеинурии ассоциированными с возвращением отложений sC5b-9 и гломерулярного воспаления. Таким образом, гипотеза, что реактивация заболевания после отмены экулизумаба переходила в дальнейшее гистологическое повреждение, для которого являлось невозможным восстановление в ходе второго курса терапии экулизумабом, является вероятной, но недоказанной.

Несмотря на преходящую реактивацию заболевания во время вымывания экулизумаба, функция почек являлась стабильной в течение по меньшей мере двух лет. Это обнаружение является надежным, поскольку было основано на прямых измерениях GFR, вместо основанных на уровне сывороточного креатинина уравнений для прогнозирования GFR, которые, как наблюдали в настоящем исследовании, не могли обеспечивать надежную оценку GFR, в частности, у пациентов с нефротическим синдромом (см. Hofstra JM, et al., *Nephrol. Dial Transplant* 2011;26:550-6). Таким образом, несмотря на то, что отсутствие контрольной группы не позволяет сделать определенные выводы о прямой причинно-следственной связи между терапией экулизумабом и наблюдаемым исходом, данные позволяют предполагать, что пациенты были защищены от ускоренной потери функции почек, характеризующей пациентов с MPGN и нефротическим синдромом (см. Riedl M, et al., *Pediatr. Nephrol.* 2017;32:43-57).

Другим представляющим интерес обнаружением в исследовании являлось то, что, в то время как уровни в плазме sC5b-9 и гломерулярное отложение были уменьшены посредством экулизумаба, уровни сывороточного C3 и гломерулярное окрашивание не были уменьшены. Эти данные согласуются с гипотезой о том, что MPGN находится под

управлением нарушения регуляции конвертазы C3 из альтернативного пути комплемента, приводящего к ускоренному потреблению C3 и гломерулярному отложению фрагментов продуктов активации C3, на которое невозможно напрямую влиять посредством направленного ингибирования C5 (см. Herlitz LC, et al., J. Am. Soc. Nephrol. 2012;23:1229-37). Это может объяснять, почему в опубликованных случаях, включая случаи, описанные в настоящем исследовании, экулизумаб никогда не обеспечивал полную ремиссию заболевания (см., например, Daina E, et al., N. Engl. J. Med. 2012;366:1161-3, Vivarelli M, Pasini A et al, N. Engl. J. Med. 2012;366:1163-5, Radhakrishnan et al., N. Engl. J. Med 2012;366:1165-6, Bombach AS, et al., Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 2012;7:748-56 и Le Quintrec M, et al., Am. J. Kidney Dis. 2018). Предположительно, может быть подтверждено, что новые молекулы, находящиеся в клинической разработке, такие как ингибиторы фактора D или фактора В, нацеленные на конвертазу C3 из альтернативного пути комплемента, являются более нефропротективными, чем антагонисты C5, и можно надеяться на изменение парадигмы лечения для большинства пациентов с MPGN (см. Ricklin D, et al., Semin. Immunol. 2016;28:208-22).

В заключение, экулизумаб может играть роль в лечении пациентов с IC-MPGN или C3GN и активацией терминального комплекса комплемента, поскольку, по-видимому, лечение с использованием экулизумаба может помогать замедлять или даже предотвращать прогрессирование заболевания, возможно, посредством смягчения гломерулярного воспаления. Отмена лечения, однако, ассоциирована с возвращением заболевания, которое может смещать возможное длительное преимущество постоянного блокирования C5. Стратификация на основании уровней в плазме sC5b-9 и, возможно, отложения C5b-9 в ткани почки, может являться рациональным способом идентификации пациентов, которые могут получать наибольшее преимущество от терапии экулизумабом. Кроме того, необходима длительная, хроническая терапия, поскольку даже временная отмена лечения ассоциирована с возвращением активности заболевания, которое, по-видимому, не поддается полному восстановлению после повторного воздействия лечения.

ОБОБЩЕНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ	
SEQ ID NO:1	аминокислотная последовательность CDR1 тяжелой цепи из экулизумаба (как определено по комбинированному определению Kabat-Chothia) GYIFSNIYWIQ
SEQ ID NO:2	аминокислотная последовательность CDR2 тяжелой цепи из экулизумаба (как определено определению Kabat) EILPGSGSTEYTENFKD
SEQ ID NO:3	аминокислотная последовательность CDR3 тяжелой цепи из экулизумаба (как определено комбинированному определению Kabat). YFFGSSPNWYFDV
SEQ ID NO:4	аминокислотная последовательность CDR1 легкой цепи из экулизумаба (как определено по определению Kabat) GASENIYGALN

ОБОБЩЕНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ
SEQ ID NO:5 аминокислотная последовательность CDR2 легкой цепи из экулизумаба (как определено по определению Kabat) GATNLAD
SEQ ID NO:6 аминокислотная последовательность CDR3 легкой цепи из экулизумаба (как определено по определению Kabat) QNVLNTPLT
SEQ ID NO:7 аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи из экулизумаба QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFSNIYWIQWVRQAPGQGLEWM GEILPGSGSTEYTENFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCARY FFGSSPNWYFDVWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO:8 аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи из экулизумаба, антитела BNJ441 и антитела BNJ421 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYGALNWIYQQKPGKAPKLLIYG TNLADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQNVLNTPLTFGQGTK VEIK
SEQ ID NO:9 аминокислотная последовательность константной области тяжелой цепи из экулизумаба и антитела BNJ421 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKC CVCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQF NWIYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLGLK
SEQ ID NO:10 аминокислотная последовательность полноразмерной тяжелой цепи из экулизумаба QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFSNIYWIQWVRQAPGQGLEWM GEILPGSGSTEYTENFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCAR YFFGSSPNWYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYT CNVDHPKPSNTKVDKTKVERKCCVCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWIYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
SEQ ID NO:11 аминокислотная последовательность полноразмерной легкой цепи из экулизумаба, антител BNJ441 и антитела BNJ421 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYGALNWIYQQKPGKAPKLLIYG ATNLADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQNVLNTPLTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPV TKSFNRGEC
SEQ ID NO:12 аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи из антитела BNJ441 и антитела BNJ421

ОБОБЩЕНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHIFSNIYWIQWVRQAPGQGLEWMGEILPGSGHTEYTENFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAR YFFGSSPNWYFDVWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO:13 аминокислотная последовательность константной области тяжелой цепи из антитела BNJ441 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVLHEALHSHYTKQKSLSLSLGK
SEQ ID NO:14 аминокислотная последовательность полноразмерной тяжелой цепи из антитела BNJ441 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHIFSNIYWIQWVRQAPGQGLEWMGEILPGSGHTEYTENFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAR YFFGSSPNWYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVLHEALHSHYTKQKSLSLSLGK
SEQ ID NO:15 аминокислотная последовательность варианта константной области тяжелой цепи IgG2, содержащего замены YTE ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO:16 аминокислотная последовательность варианта полноразмерной тяжелой цепи из экулизумаба, содержащего константную область тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO:15 (выше) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFSNIYWIQWVRQAPGQGLEWMGEILPGSGSTEYTENFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAR YFFGSSPNWYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO:17 аминокислотная последовательность CDR1 легкой цепи из экулизумаба (как определено по определению Kabat) с заменой глицин-гистидин в положении 8, относительно SEQ ID NO:

ОБОБЩЕНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ	
GASENIY <u>H</u> ALN	
SEQ ID NO:18	показана аминокислотная последовательность CDR2 тяжелой цепи из экулизумаба, в которой серин в положении 8 относительно SEQ ID NO:2 заменен на гистидин
EILPGSG <u>H</u> TEYTENFKD	
SEQ ID NO:19	аминокислотная последовательность CDR1 тяжелой цепи из экулизумаба, в которой тирозин в положении 2 (относительно SEQ ID NO:1) заменен на гистидин
G <u>H</u> IFSNYWIQ	
SEQ ID NO:20	аминокислотная последовательность полноразмерной тяжелой цепи из антитела BNJ421
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG <u>H</u> IFSNYWIQWVRQAPGQGLEW MGEILPGSG <u>H</u> TEYTENFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED ^{TA} VYYC ARYFFGSSPNWYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQT YTCNV ^{DH} KPSNTKVDK ^{TV} ERKCCVECP ^{PC} APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ^{TP} PPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSV <u>M</u> HEALH <u>N</u> HYTQKSLSLSLGK	

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения взрослого пациента-человека с мембранопролиферативным гломерулонефритом (MPGN), включающий введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO: 1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO: 4, 5 и 6, соответственно,

где пациент, как определено, имеет подтвержденный по биопсии MPGN, выведение креатинина более 20 мл/мин на 1,73 м² и/или 24-часовую протеинурию, превышающую 3,5 г, у взрослых, и

где способ включает цикл введения, включающий (а) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где:

(а) фаза индукции включает период четыре недели, где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе 900 мг один раз в неделю; и

(b) во время фазы поддержания, антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят один раз в дозе 1200 мг на пятой неделе цикла введения, с последующими 1200 мг каждые 14±2 суток после этого.

2. Способ по п.1, где пациент, как определено, имеет постоянно низкие уровни C3 по меньшей мере в двух последовательных определениях и постоянно высокие уровни sC5b9 (>1000 нг/мл) по меньшей мере в двух предшествующих последовательных определениях.

3. Способ лечения пациента-человека детского возраста с мембранопролиферативным гломерулонефритом (MPGN), включающий введение пациенту антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO:1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO:4, 5 и 6, соответственно,

где пациент, как определено, имеет подтвержденный по биопсии MPGN, выведение креатинина более 20 мл/мин на 1,73 м², и/или 24-часовую протеинурию, превышающую 40 мг/час/м² (или превышение 2 мг белка/мг креатинина в образцах разовой порции мочи), и

где способ включает цикл введения, включающий (а) фазу индукции с последующей (b) фазой поддержания, где:

(а) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы индукции в дозе:

- 1) 900 мг один раз в неделю в течение четырех недель для пациента ≥ 40 кг;
- 2) 600 мг один раз в неделю в течение двух недель для пациента 30 кг - < 40 кг;
- 3) 600 мг один раз в неделю в течение двух недель для пациента 20 кг - < 30 кг;
- 4) 600 мг один раз в неделю в течение одной недели для пациента 10 кг - < 20 кг;
- 5) 300 мг один раз в неделю в течение одной недели для пациента 5 кг - < 10 кг; и

(b) антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят во время фазы поддержания в дозе:

1) 1200 мг на пятой неделе цикла введения, с последующими 1200 мг каждые две недели после этого, для пациента ≥ 40 кг;

2) 900 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 900 мг каждые две недели после этого, для пациента 30 кг - < 40 кг;

3) 600 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 600 мг каждые две недели после этого, для пациента 20 кг - < 30 кг;

4) 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые две недели после этого, для пациента 10 кг - < 20 кг пациент; или

5) 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые три недели после этого, для пациента 5 кг - < 10 кг.

4. Способ по п.3, где пациент, как определено, имеет постоянно низкие уровни C3 по меньшей мере в двух последовательных определениях и постоянно высокие уровни sC5b9 (>1000 нг/мл) по меньшей мере в двух предшествующих последовательных определениях.

5. Способ по любому из предшествующих пп., где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO: 7, и переменную область легкой цепи, показанную в SEQ ID NO:8.

6. Способ по любому из предшествующих пп., где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент дополнительно содержит константную область тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO:9.

7. Способ по любому из предшествующих пп., где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит полипептид тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO:10, и полипептид легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO:11.

8. Способ по любому из предшествующих пп., где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят посредством внутривенной инфузии.

9. Способ по любому из предшествующих пп., где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят взрослому пациенту-человеку посредством внутривенной инфузии в течение периода от 25 минут до 45 минут.

10. Способ по любому из предшествующих пп., где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят взрослому пациенту-человеку посредством внутривенной инфузии в течение периода, не превышающего двух часов.

11. Способ по п.3, где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту-человеку детского возраста в возрасте от 12 лет до не более 18 лет посредством внутривенной инфузии в течение периода, не превышающего двух часов.

12. Способ по п.3, где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту-человеку детского возраста в возрасте менее 12 лет посредством

внутривенной инфузии в течение периода, не превышающего четырех часов.

13. Способ по п.3, где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе:

а) 900 мг один раз в неделю в течение четырех недель во время фазы индукции, 1200 мг на пятой неделе цикла введения, с последующими 1200 мг каждые две недели после этого во время фазы поддержания, для пациента ≥ 40 кг;

б) 600 мг один раз в неделю в течение двух недель во время фазы индукции, 900 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 900 мг каждые две недели после этого во время фазы поддержания, для пациента 30 кг - < 40 кг;

с) 600 мг один раз в неделю в течение двух недель во время фазы индукции, 600 мг на третьей неделе цикла введения, с последующими 600 мг каждые две недели после этого во время фазы поддержания, для пациента 20 кг - < 30 кг;

д) 600 мг один раз в неделю в течение одной недели во время фазы индукции, 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые две недели после этого во время фазы поддержания, для пациента 10 кг - < 20 кг;

е) 300 мг один раз в неделю в течение одной недели во время фазы индукции, 300 мг на второй неделе цикла введения, с последующими 300 мг каждые три недели после этого во время фазы поддержания, для пациента 5 кг - < 10 кг.

14. Способ по любому из предшествующих пп., где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят один раз в месяц после фазы поддержания.

15. Способ по любому из предшествующих пп., где лечение уменьшает 24-часовую протеинурию на неделе 24, по сравнению с исходной.

16. Способ по любому из предшествующих пп., где лечение уменьшает 24-часовую протеинурию на неделе 48, по сравнению с исходной.

17. Способ по любому из предшествующих пп., где лечение приводит к полной или частичной ремиссии MPGN.

18. Способ по любому из предшествующих пп., где лечение обеспечивает сдвиг по направлению к нормальным уровням соотношения альбумина/креатинина в моче, сывороточного креатинина, выведения креатинина, общего уровня сывороточных белков, сывороточного альбумина, уровней LDL-, HDL-холестерина и триглицеридов, гематокрита и/или концентрации гемоглобина.

19. Способ по любому из предшествующих пп., где лечение улучшает один или несколько параметров функции почек, выбранных из группы, состоящей из скорости клубочковой фильтрации (GFR) (как оценено посредством измерения выведения иогексола из плазмы), фракционного выведения альбумина, IgG, натрия, калия и индекса сопротивления почек (как оценено посредством ультразвукового исследования).

20. Способ по любому из предшествующих пп., где MPGN представляет собой опосредованный иммунными комплексами MPGN (опосредованный IC MPGN).

21. Способ по любому из пп. 1-19, где MPGN представляет собой C3-гломерулопатию.

22. Способ по п.21, где С3-гломерулопатия представляет собой болезнь плотного осадка (DDD) или С3-гломерулонефрит.

23. Набор для лечения MPGN у пациента-человека, содержащий: дозу антитела против С5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего: последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO:1, 2 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO: 4, 5 и 6; и инструкции для применения антитела против С5 или его антигенсвязывающего фрагмента в способе по любому из предшествующих пп.

24. Способ лечения взрослого пациента-человека с мембранопролиферативным гломерулонефритом (MPGN), включающий введение пациенту антитела против С5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO:19, 18 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO:4, 5 и 6, соответственно,

где пациент, как определено, имеет подтвержденный по биопсии MPGN, выведение креатинина более 20 мл/мин на 1,73 м², и/или 24-часовую протеинурию, превышающую 3,5 г, и

где способ включает цикл введения, и где антитело против С5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят:

(а) один раз на сутки 1 цикла введения в дозе: 2400 мг для пациента массой ≥ 40 - < 60 кг, 2700 мг для пациента массой ≥ 60 - < 100 кг или 3000 мг для пациента массой ≥ 100 кг; и

(b) на сутки 15 цикла введения и каждые восемь недель после этого в дозе 3000 мг для пациента массой ≥ 40 - < 60 кг, 3300 мг для пациента массой ≥ 60 - < 100 кг, или 3600 мг для пациента массой ≥ 100 кг.

25. Способ по п.24, где пациент, как определено, имеет постоянно низкие уровни С3 по меньшей мере в двух последовательных определениях и постоянно высокие уровни sC5b9 (>1000 нг/мл), по меньшей мере в двух предшествующих последовательных определениях.

26. Способ по п.24 или 25, где антитело против С5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту массой ≥ 40 - < 60 кг:

(а) один раз на сутки 1 цикла введения в дозе 2400 мг; и

(b) на сутки 15 цикла введения и каждые восемь недель после этого в дозе 3000 мг.

27. Способ по п.24 или 25, где антитело против С5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту массой ≥ 60 - < 100 кг:

(а) один раз на сутки 1 цикла введения в дозе 2700 мг; и

(b) на сутки 15 цикла введения и каждые восемь недель после этого в дозе 3300 мг.

28. Способ по п.24 или 25, где антитело против С5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту массой ≥ 100 кг:

(а) один раз на сутки 1 цикла введения в дозе 3000 мг; и

(b) на сутки 15 цикла введения и каждые восемь недель после этого в дозе 3600 мг.

29. Способ по любому из пп. 24-28, где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариант константной области Fc человека, который связывает неонатальный рецептор Fc человека (FcRn), где вариант CH3 константной области Fc человека содержит замены Met-429-Leu и Asn-435-Ser в остатках, соответствующих метионину 428 и аспарагину 434, каждый согласно нумерации EU.

30. Способ по любому из пп. 24-28, где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO:12, и вариабельную область легкой цепи, показанную в SEQ ID NO:8.

31. Способ по любому из пп. 24-28, где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент дополнительно содержит константную область тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO:13.

32. Способ по любому из пп. 24-28, где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент дополнительно содержит константную область тяжелой цепи, показанную в SEQ ID NO:9.

33. Способ по любому из пп. 24-28, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит полипептид тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO:14, и полипептид легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO:11.

34. Способ по любому из пп. 24-28, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит полипептид тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO:20, и полипептид легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO:11.

35. Способ по любому из пп. 24-34, где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят посредством внутривенной инфузии.

36. Способ по любому из пп. 24-35, где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят взрослому пациенту-человеку посредством внутривенной инфузии в течение периода от 25 минут до 45 минут.

37. Способ по любому из пп. 24-36, где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят взрослому пациенту-человеку посредством внутривенной инфузии в течение периода, не превышающего двух часов.

38. Способ по любому из пп. 24-37, где антитело против C5 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят один раз в месяц после фазы поддержания.

39. Способ по любому из пп. 24-38, где лечение уменьшает 24-часовую протеинурию на неделе 24, по сравнению с исходной.

40. Способ по любому из пп. 24-39, где лечение уменьшает 24-часовую протеинурию на неделе 48, по сравнению с исходной.

41. Способ по любому из пп. 24-40, где лечение приводит к полной или частичной ремиссии MPGN.

42. Способ по любому из пп. 24-41, где лечение обеспечивает сдвиг по направлению к нормальным уровням соотношения альбумина/креатинина в моче, сывороточного креатинина, выведения креатинина, общего уровня сывороточных белков, сывороточного альбумина, LDL-, HDL-холестерина и триглицеридов, гематокрита и/или концентрации гемоглобина.

43. Способ по любому из пп. 24-42, где лечение улучшает один или несколько параметров функции почек, выбранных из группы, состоящей из скорости клубочковой фильтрации (GFR) (как оценено посредством измерения выведения иогексола из плазмы), фракционного выведения альбумина, IgG, натрия, калия, и индекса сопротивления почек (как оценено посредством ультразвукового исследования).

44. Способ по любому из пп. 24-43, где MPGN представляет собой опосредованный иммунными комплексами MPGN» (опосредованный IC MPGN).

45. Способ по любому из пп. 24-43, где MPGN представляет собой C3-гломерулопатию.

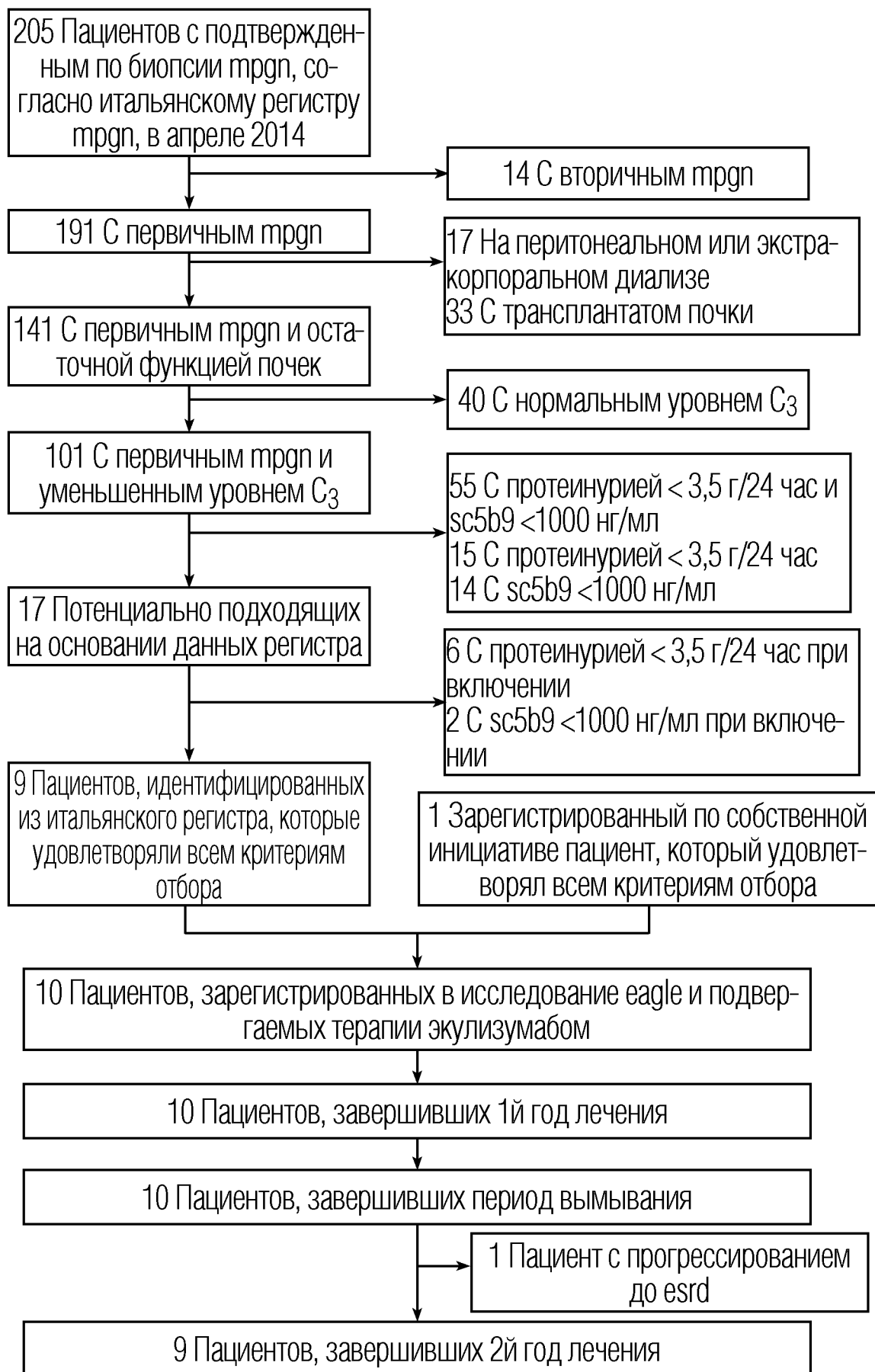
46. Способ по п.45, где C3-гломерулопатия представляет собой болезнь плотного осадка (DDD) или C3-гломерулонефрит.

47. Набор для лечения MPGN у пациента-человека, содержащий: дозу антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, как указано в SEQ ID NO:19, 18 и 3, соответственно, и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, как указано в SEQ ID NO:4, 5 и 6; и инструкции для применения антитела против C5 или его антигенсвязывающего фрагмента в способе по любому из пп. 25-46.

НОМЕР ОСМОТРА	V1				V2	V3	V4	ИЗМЕНЕНИЕ ДОЗЫ	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12	V13	V14	V15	V16	V17	V18	V19	V20	V21	V22	V23	V24	V25	V26	V27	
ВРЕМЯ ¹	-3 СУТ.	-2 СУТ.	-1 СУТ.	0 СУТ.	+1 СУТ.	Н. 1	Н. 2		Н. 3	Н.4	Н.6	Н.8	Н.10	Н.12	Н.14	Н.16	Н.18	Н.20	Н.22	Н.24	Н.26	Н.28	Н.30	Н.32	Н.34	Н.36	Н.38	Н.40	Н.42	Н.44	Н.46	Н.48
ИСХОДНЫЕ ДАННЫЕ ²	X																															
ФИЗИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ/МАССА/ЖИЗНЕННО ВАЖНЫЕ ФУНКЦИИ ³			X			X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ ⁴	A		B			B	A		B	B	A		A		A		A		A		A		A		A		A		A		A	
АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕМЕНТА ⁵	X						X		X	X				X						X					X							X
ТЕСТ НА БЕРЕМЕННОСТЬ	X																															
ИССЛЕДОВАНИЕ МОЧИ ⁶	X						X		X	X				X		X		X		X		X		X		X		X		X		X
ТРИ 24-ЧАСОВЫХ СБОРА МОЧИ ⁷	X						X							X						X					X							X
ЭКГ В 12 ОТВЕДЕНИЯХ В ПОКОЕ	X																															
ВЫВЕДЕНИЕ ИОГЕКСОЛА ИЗ ПЛАЗМЫ ⁸	X						X												X												X	
УЛЬТРАЗВУКОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ⁹			X				X												X												X	
ВРЕМЯ КРОВОТЕЧЕНИЯ	X																														X	
БИОПСИЯ ПОЧЕК ¹⁰		X																													X	
КРИТЕРИИ ВКЛЮЧЕНИЯ/КРИТЕРИИ ИСКЛЮЧЕНИЯ	X			X																												
ВВЕДЕНИЕ ЭКУЛИЗУМАБА				X			X	X	X					X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
СОПУТСТВУЮЩАЯ ТЕРАПИЯ	X	X	X	X	X	X	X	X	X					X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
НЕБЛАГОПРИЯТНЫЕ СОБЫТИЯ	X	X	X	X	X	X	X	X	X					X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	

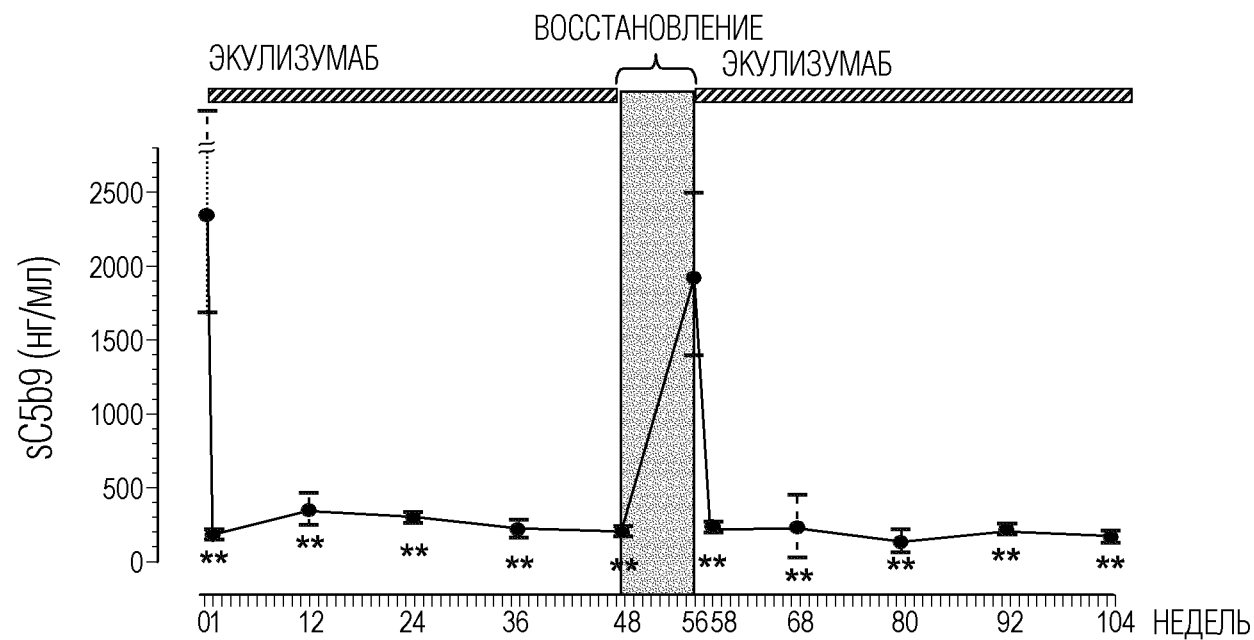
1. ВРЕМЯ: «СУТ.»=СУТКИ, «Н.»=НЕДЕЛЯ И «М.»=МЕСЯЦ
2. ИСХОДНЫЕ ДАННЫЕ ВКЛЮЧАЮТ ПИСЬМЕННОЕ ИНФОРМИРОВАННОЕ СОГЛАСИЕ, ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ ПАЦИЕНТА, РОСТ, ОБРАЗ ЖИЗНИ, СЕМЕЙНОЕ ПОЛОЖЕНИЕ, ОБРАЗОВАНИЕ, ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС, РЕПРОДУКТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ, СЕМЕЙНЫЙ АНАМНЕЗ, ПРЕДШЕСТВУЮЩИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ И ПРЕДШЕСТВУЮЩИЕ ВИДЫ ЛЕЧЕНИЯ, СЕРТИФИКАТ О ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ NEISSERIA MENINGITIDIS (ПРОВЕДЕННОЙ ЗА 15 СУТОК ДО ПЕРВОЙ ИНФУЗИИ ЭКУЛИЗУМАБА) И СЕРТИФИКАТ О ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ НАЕМОРИЛИС INFLUENZA (ТОЛЬКО ДЛЯ ДЕТЕЙ)
3. ЖИЗНЕННО ВАЖНЫЕ ФУНКЦИИ: РУКУ С НАИВЫСШИМ КРОВЯНЫМ ДАВЛЕНИЕМ ОПРЕДЕЛЯЮТ ПРИ ПЕРВОМ ОСМОТРЕ, И КРОВЯНОЕ ДАВЛЕНИЕ СЛЕДУЕТ ИЗМЕРЯТЬ В ЭТОЙ РУКЕ НА ПРОТЯЖЕНИИ ИССЛЕДОВАНИЯ. КРОВЯНОЕ ДАВЛЕНИЕ ИЗМЕРЯЮТ НА ПЛЕЧЕВОЙ АРТЕРИИ УТРОМ, ПОСЛЕ 5 МИНУТ ПОКОЯ В ПОЛОЖЕНИИ СИДЯ. НЕОБХОДИМО ПРОВОДИТЬ ТРИ ИЗМЕРЕНИЯ С ИНТЕРВАЛОМ В ДВЕ МИНУТЫ
4. ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ: А: КРЕАТИНИН, МОЧЕВИНА, НАТРИЙ, КАЛИЙ, КАЛЬЦИЙ, ФОСФОР, GOT/AST, GPT/ALT, ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА, ГАММА-GT, МОЧЕВАЯ КИСЛОТА, ОБЩИЙ УРОВЕНЬ ХОЛЕСТЕРИНА, HDL-ХОЛЕСТЕРИН, LDL-ХОЛЕСТЕРИН, СРК, ГЛЮКОЗА, ТРИГЛИЦЕРИДЫ, ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ С-РЕАКТИВНЫЙ БЕЛОК, ИММУНОГЛОБУЛИН, ОБЩИЙ УРОВЕНЬ БЕЛКА, АЛЬБУМИН, ЭЛЕКТРОФОРЕЗ БЕЛКА, ЭРИТРОЦИТЫ, ГЕМАТОКРИТ, ГЕМОГЛОБИН, ТРОМБОЦИТЫ, ЛЕЙКОЦИТЫ, НЕЙТРОФИЛЫ, ЭОЗИНОФИЛЫ, БАЗОФИЛЫ, ЛИМФОЦИТЫ И МОНОЦИТЫ, ФЕРРИН, LDH. НА «СУТКИ 0», РТ И РТТ
5. АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕМЕНТА: УРОВНИ C3, C4, C3A, C5A, BB И SC5B9
6. ИССЛЕДОВАНИЕ МОЧИ: ОБЩИЙ АНАЛИЗ МОЧИ И КРЕАТИНИН, АЛЬБУМИН, А/С И Р/С
7. ТРИ 24-ЧАСОВЫХ СБОРА МОЧИ: НАТРИЙ, КАЛИЙ, КРЕАТИНИН, МОЧЕВИНА, ГЛЮКОЗА, ФОСФОР, ОБЩИЙ УРОВЕНЬ БЕЛКА, АЛЬБУМИН И ВЫВЕДЕНИЕ КРЕАТИНИНА, А/С И Р/С. НА Н. 0, Н. 1, Н. 24 И Н. 48, ФРАКЦИОННОЕ ВЫВЕДЕНИЕ IGG, АЛЬБУМИНА, КАЛИЯ И НАТРИЯ
8. ВЫВЕДЕНИЕ ИОГЕКСОЛА: ВЫВЕДЕНИЕ ИОГЕКСОЛА ИЗ ПЛАЗМЫ (МЛ/МИН)
9. УЛЬТРАЗВУКОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ: ОЦЕНКА ИНДЕКСА ПЕРФУЗИИ И СОПРОТИВЛЕНИЯ
10. БИОПСИЯ ПОЧЕК: ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ (C3, IGG, C4D, C5B-9), СТРУКТУРНЫЕ И УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ

ФИГ. 1

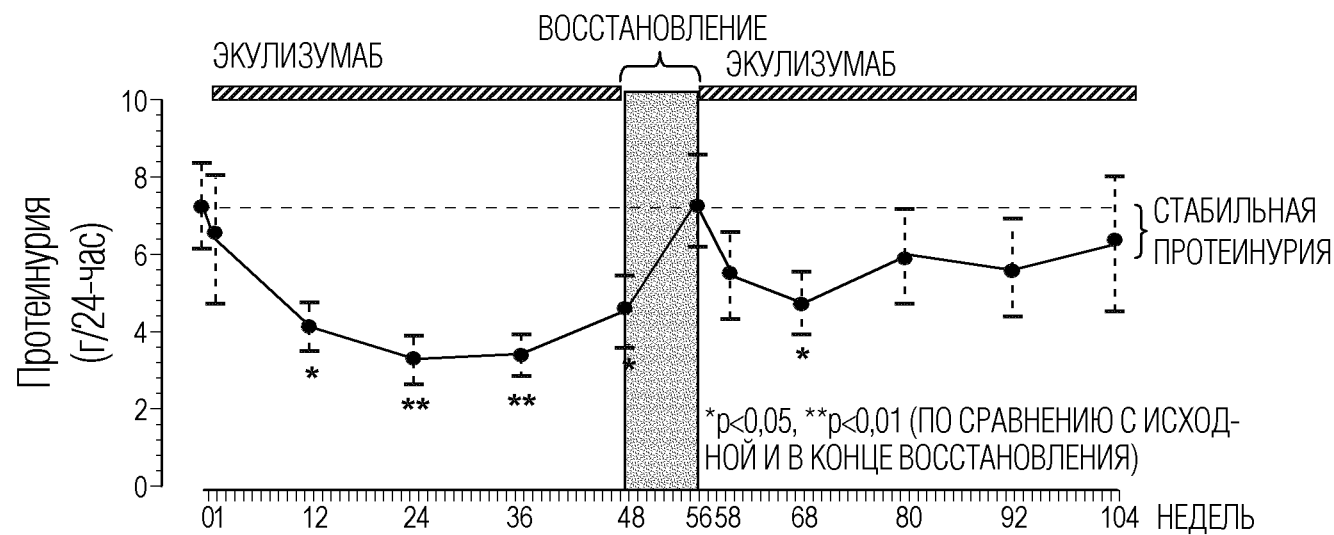


ФИГ. 2

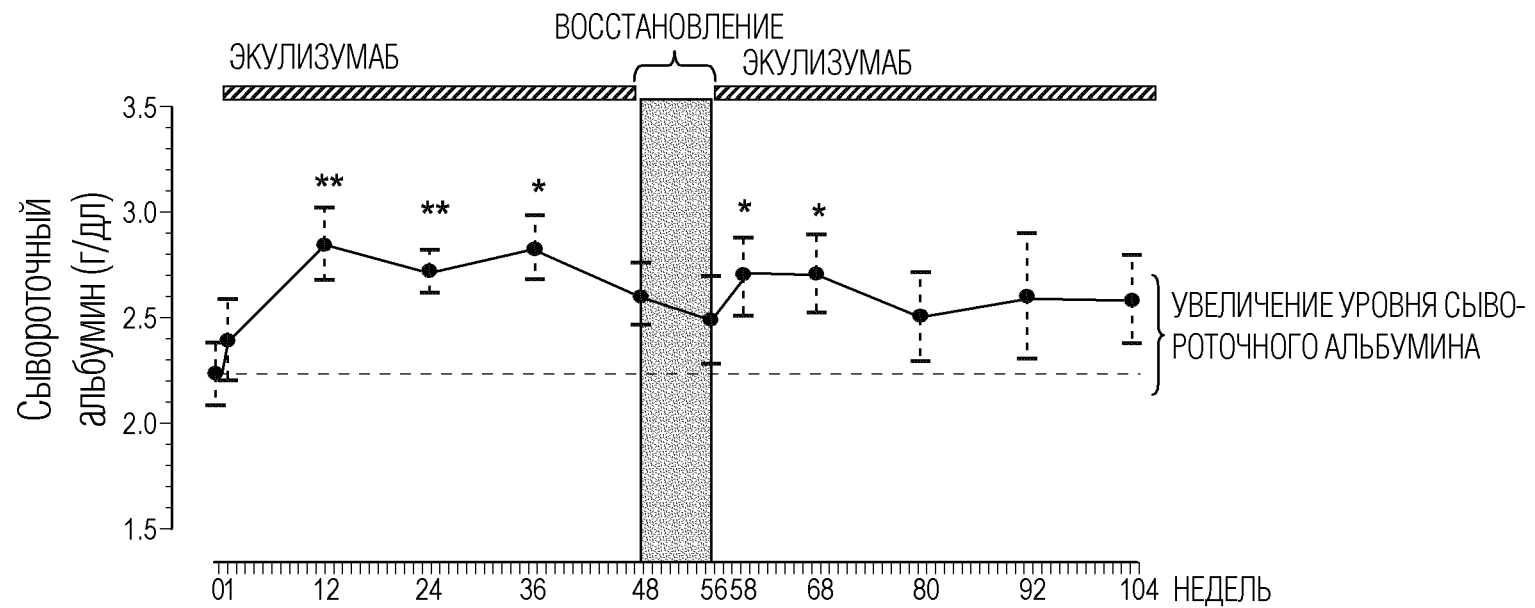
ФИГ. 3А



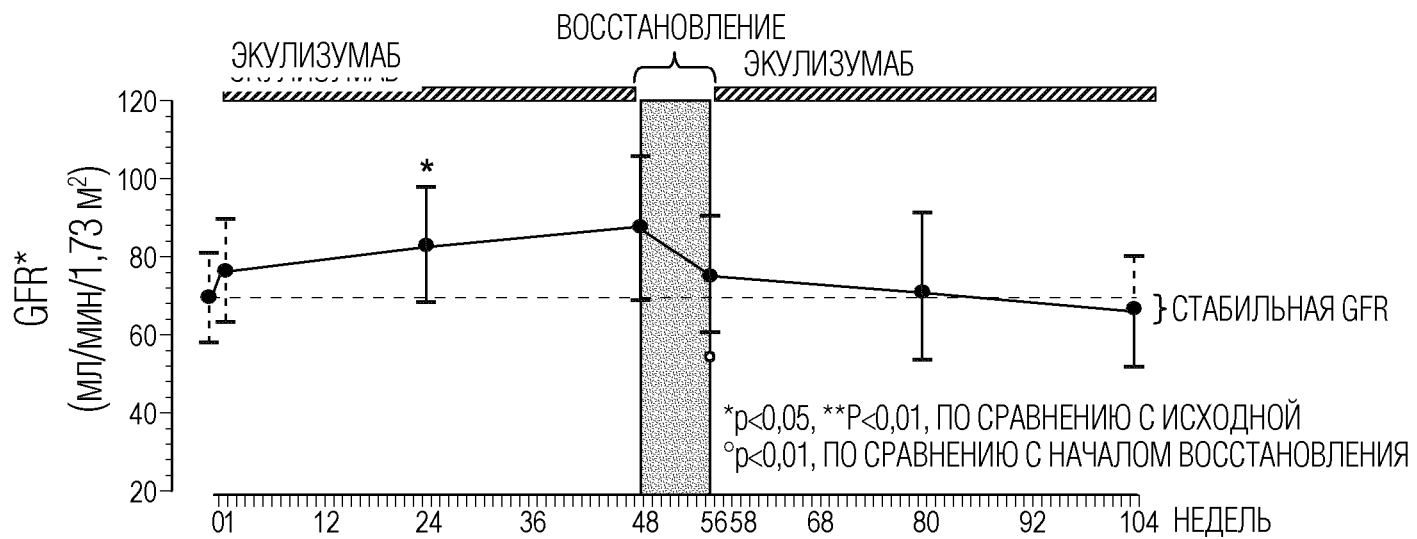
ФИГ. 3В



ФИГ. 4А



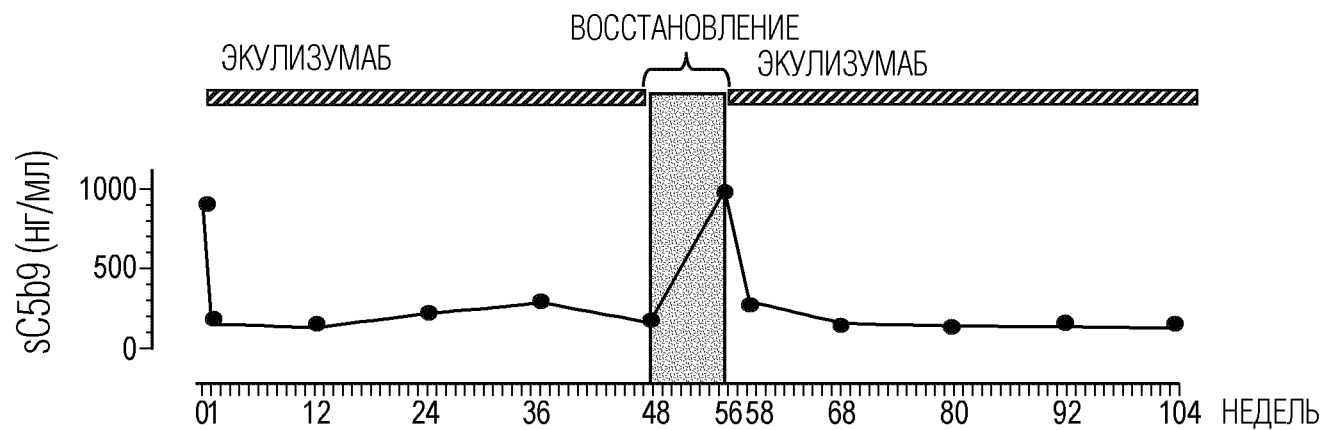
ФИГ. 4В



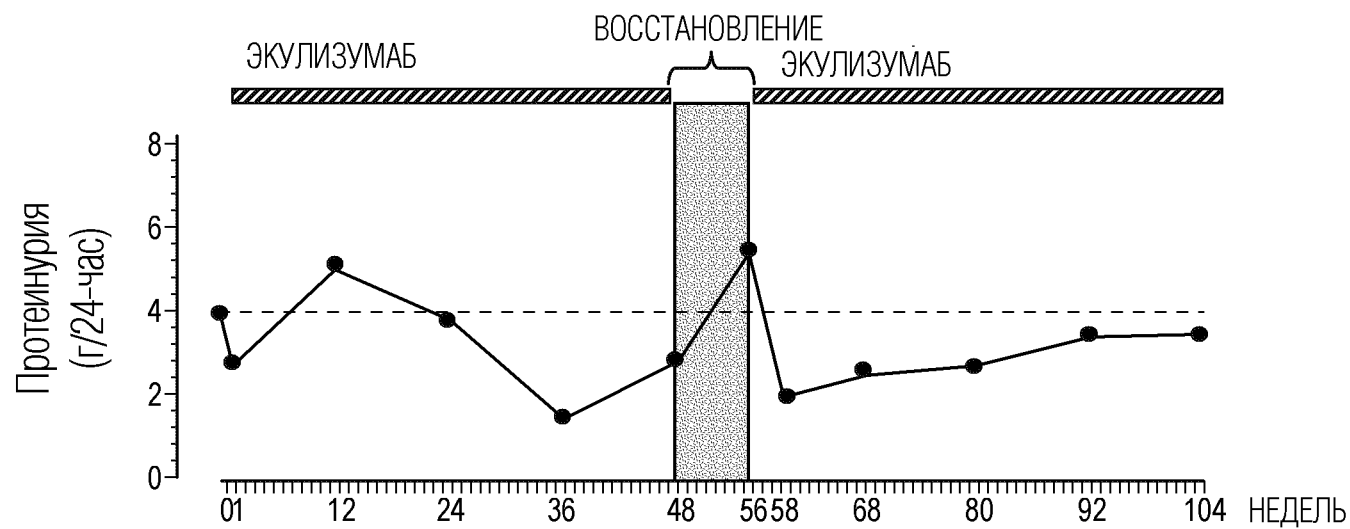
*СПОСОБ ВЫВЕДЕНИЯ ИОГЕКСОЛА ИЗ ПЛАЗМЫ

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, ПО СРАВНЕНИЮ С ИСХОДНОЙ
 $^{\circ}p < 0,01$, ПО СРАВНЕНИЮ С НАЧАЛОМ ВОССТАНОВЛЕНИЯ

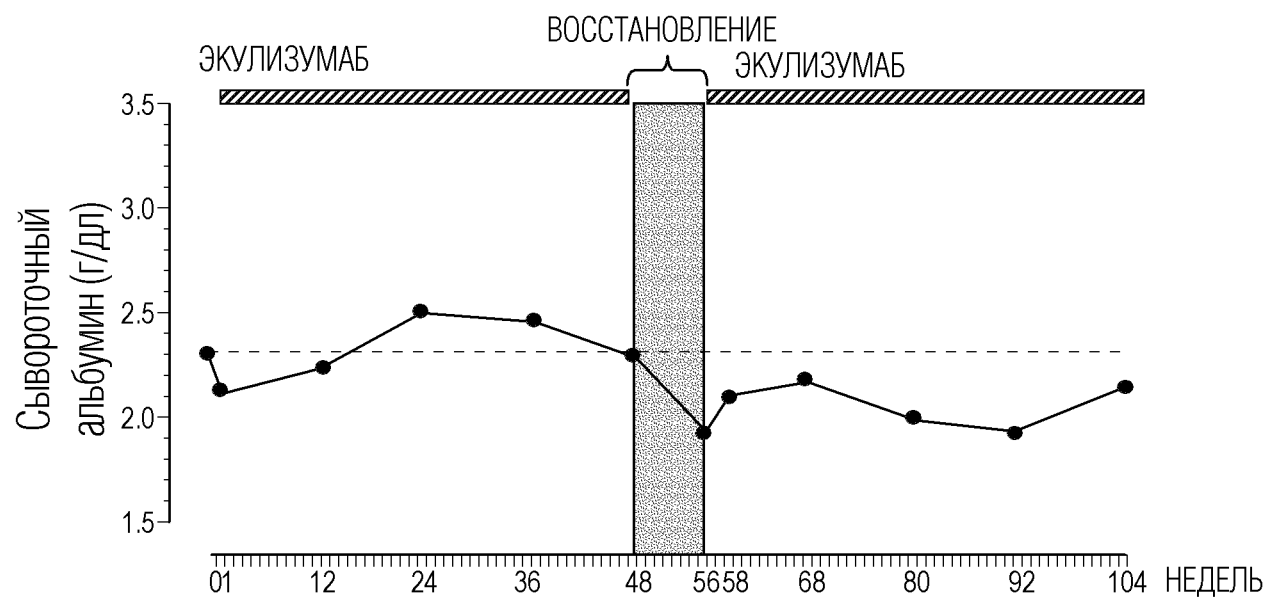
ФИГ. 5А



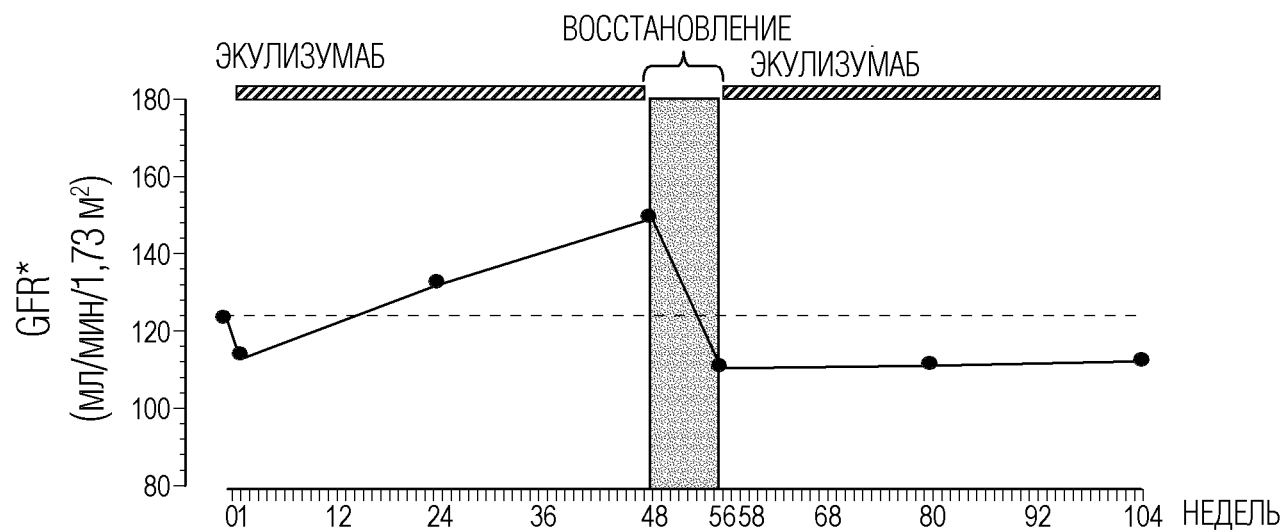
ФИГ. 5В



ФИГ. 6А



ФИГ. 6В



*СПОСОБ ВЫВЕДЕНИЯ ИОГЕКСОЛА ИЗ ПЛАЗМЫ

ИЗМЕНЕНИЯ КЛИНИЧЕСКИХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ПАРАМЕТРОВ ВО ВРЕМЯ ДВУХ ПЕРИОДОВ ЛЕЧЕНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭКУЛИЗУМАБА (ОТ НЕДЕЛИ 0А ДО НЕДЕЛИ 48А И ОТ НЕДЕЛИ 0В ДО НЕДЕЛИ 48В) И ПЕРИОДА ВЫМЫВАНИЯ (ОТ НЕДЕЛИ 48А ДО НЕДЕЛИ 0В), ПО СРАВНЕНИЮ С ИСХОДНЫМИ

НЕДЕЛЯ	0a	1	1a	12a	24a	36a	48a	0b	12b	24b	36b	48b
МАРКЕРЪ КОМПЛЕМЕНТА												
сC5b9 (нг/мл)	2420 [191-3330]	177 [114-207]**	345 [264-396]**	289 [225-377]**	206 [132-418]**	188 [147-262]**	2118 [1723-2635]	221 [161-238]**	142 [119-252]**	203 [139-312]**	149 [128-194]**	
С3(мг/дл)	14.5 [10.3-24.4]	13.5 [11.9-18.3]	13.8 [9.8-15.5]*	13.1 [8.8-18.7]	11.7 [9.8-15.1]	13.8 [11.3-15.4]	20.6 [11.7-31.2]*	13.4 [11.9-22.3]	13.5 [12.0-16.9]	12.5 [11.2-19.1]	11.1 [9.6-16.0]	
С4(мг/дл)	15.0 [10.3-29.4]	19.6 [12.5-26.5]*	15.2 [14.2-28.6]	19.8 [14.6-26.4]	17.5 [12.1-23.2]	17.0 [12.9-23.2]	18.5 [14.3-26.4]	19.0 [15.0-27.8]	18.4 [13.6-27.5]	18.5 [12.8-27.1]	15.8 [11.3-17.9]	
Клинические параметры												
Масса тела (кг)	59.1 ± 15	58.3 ± 14	58.2 ± 12	58.1 ± 12	60.7 ± 11	59.6 ± 11	63.0 ± 10	60.8 ± 10	61.2 ± 10	60.9 ± 9	61.1 ± 9	
BMI (кг/м²)	21.5 ± 3.3	21.2 ± 3.1	21.2 ± 2.7	20.9 ± 2.8	21.5 ± 2.7	21.3 ± 2.8	22.1 ± 2.8	21.5 ± 2.7	21.6 ± 2.5	21.5 ± 2.5	21.8 ± 2.6	
Систолическое ВР (мм рт.ст.)	120.8 ± 14	115.8 ± 13*	116.8 ± 17	115.9 ± 16	114.3 ± 12*	118.4 ± 13	125.0 ± 16	119.2 ± 13	118.6 ± 11	120.2 ± 24	115.2 ± 14	
Диастолическое ВР (мм рт.ст.)	74.8 ± 13	73.7 ± 12	73.7 ± 14	72.4 ± 10	70.6 ± 9	74.5 ± 15	77.5 ± 17	73.4 ± 12	75.4 ± 9	76.9 ± 16	71.4 ± 9	
Лабораторные параметры												
Общий уровень (мг/дл)	228.4 ± 30	231.9 ± 56	204.0 ± 33**	184.0 ± 43**	183.4 ± 27**	215.1 ± 83	241.7 ± 51	238.2 ± 59	221.2 ± 63	212.4 ± 65	214.3 ± 66	
LDL (мг/дл)	148.6 ± 39	148.0 ± 61	121.1 ± 38*	111.9 ± 50**	102.4 ± 31*	135.6 ± 76	146.7 ± 48	151.3 ± 59	140.7 ± 52	134.6 ± 52	134.4 ± 58	
HDL (мг/дл)	47.5 ± 13	55.2 ± 34	54.5 ± 20*	49.0 ± 13	53.3 ± 23	48.4 ± 16	48.3 ± 19	51.1 ± 24	42.8 ± 16	48.1 ± 26	48.7 ± 21	
Соотношение LDL/HDL	3.45 ± 1.6	3.36 ± 1.7	2.56 ± 1.1*	2.53 ± 1.4*	2.40 ± 1.4*	3.26 ± 2.4	3.91 ± 2.3	3.76 ± 2.6	3.81 ± 2.0	3.29 ± 1.5	3.35 ± 2.0	
Сывороточные триглицериды (мг/дл)	103 [77-231]	107 [89-153]	112 [101-156]	113 [52-142]	118 [51-154]	109 [58-158]	113 [69-158]	114 [91-215]	118 [80-156]	119 [85-181]	85 [59-145]	
Глюкоза в крови (мг/дл)	88.3 ± 10	74.4 ± 10**	79.6 ± 7	93.5 ± 17	82.1 ± 6.8	87.7 ± 7.9	90.6 ± 7.2	79.8 ± 9.7	86.5 ± 9.1	78.0 ± 11.3	86.6 ± 6.4	
Гемоглобин (г/дл)	11.3 ± 1.7	11.3 ± 2.1	12.0 ± 1.6*	11.3 ± 1.9	12.1 ± 1.9**	11.7 ± 2.1	11.3 ± 1.8	11.9 ± 1.8*	11.6 ± 1.6	12.3 ± 1.8**	11.5 ± 1.7	
Сывороточный кальций (мг/дл)	8.34 ± 0.4	9.54 ± 3.7	7.94 ± 2.0	8.52 ± 0.3	7.77 ± 2.1	8.52 ± 0.3	8.26 ± 0.4	7.56 ± 2.0	8.31 ± 0.4	7.61 ± 2.0	8.28 ± 0.4	
Сывороточный фосфат (мг/дл)	5.46 ± 0.7	5.52 ± 0.5	4.66 ± 1.2	4.84 ± 0.5*	4.42 ± 1.2*	5.05 ± 0.7*	5.43 ± 0.9	4.23 ± 1.2*	5.08 ± 0.8	4.26 ± 1.2**	4.92 ± 0.6	
Сывороточный калий (мЭкв/дл)	4.71 ± 0.7	4.73 ± 0.5	4.86 ± 0.7	4.51 ± 0.4	4.63 ± 0.4	4.46 ± 0.3	4.83 ± 0.5	4.76 ± 0.6	4.50 ± 0.6	4.60 ± 0.5	4.56 ± 0.8	
Сывороточные белки (г/дл)	4.64 ± 0.8	4.90 ± 0.8	5.33 ± 0.5**	5.18 ± 0.4*	5.22 ± 0.6*	4.92 ± 0.6	4.64 ± 0.9	5.13 ± 0.7*	4.93 ± 0.9	5.20 ± 1.0	4.71 ± 0.9	
Сывороточный альбумин (г/дл)	2.44 ± 0.5	2.47 ± 0.5	2.87 ± 0.5**	2.72 ± 0.3*	2.83 ± 0.5*	2.65 ± 0.4	2.48 ± 0.6	2.71 ± 0.6	2.55 ± 0.6	2.76 ± 0.7	2.48 ± 0.6	
Сывороточный креатинин (мг/дл)	1.21 ± 1.0	1.13 ± 0.9	1.06 ± 0.8	1.07 ± 0.8	1.12 ± 1.0	1.21 ± 1.1	1.68 ± 1.8*	1.45 ± 1.2	1.54 ± 1.7	1.81 ± 2.3	1.17 ± 0.8*	
Параметры функции почек												
Измеренная GFR (мл/мин/1,73 м²)	78.0 [30.7-91.5]	83.1 [32.7-112.2]	-	90.1 [37.7-23.3]**	-	80.1 [29.2-137.7]	75.8 [38.5-110.2]	-	69.9 [24.4-102.9]	-	70.2 [40.3-114.1]	
Оцененная GFR (мл/мин/1,73 м²)	125.9 [37.3-162.8]	130.2 [39.2-162.1]	-	133.8 [47.1-154.8]	-	133.1 [41.4-159.9]	110.1 [30.0-156.0]*	-	124.1 [34.3-155.8]	-	90.4 [57.4-152.4]**	
Протеинурия (г/24-час)	6.03 [4.84-12.4]	4.5 [3.6-11.9]*	4.83 [3.63-5.36]*	3.74 [3.17-4.40]**	3.43 [3.10-5.42]**	5.06 [3.09-5.76]*	7.02 [4.26-9.49]	5.60 [2.38-7.24]	6.06 [3.40-8.10]	6.43 [3.77-7.39]	7.79 [2.11-8.43]	
Альбуминурия (мкг/мин)	3199 [2302-5660]	2609 [1710-5005]	2961 [1993-3771]	1920 [1386-2020]*	1921 [1407-2333]	2685 [1707-3773]	2839 [1891-4491]	1513 [916-3081]	3391 [1903-3969]	3112 [2029-5684]	3461 [998-3921]	
Натрийурез (мЭкв/24-час)	107 [93-171]	156 [137-167]	152 [113-167]	138 [124-162]	126 [110-158]	140 [109-164]	163 [132-173]	117 [101-142]	156 [96-197]	126 [115-165]	119 [99-152]	
Фосфатурия (мг/24-час)	617 [407-663]	651 [447-709]	535 [489-597]	607 [550-736]	579 [450-659]	508 [428-776]	608 [539-625]	553 [420-678]	544 [479-691]	561 [470-570]	570 [505-683]	
Выведение мочевины с мочой (г/24-час)	18.2 [13.6-22.2]	19.1 [16.2-22.0]	16.6 [14.0-18.5]	17.3 [15.1-22.9]	17.1 [11.5-20.5]	15.4 [14.0-20.5]	16.5 [16.2-17.3]	17.4 [14.7-19.4]	15.8 [14.2-19.2]	15.7 [15.6-17.6]	15.2 [14.4-17.1]	
Фракционное выведение альбумина	238 [117-580]	126 [76-432]**	-	85 [60-140]**	-	171 [25 to 264]*	243 [93 to 436]	-	252 [61 to 449]	-	352 [42 to 685]	
Фракционное выведение IgG	42.3 [22.6-195.8]	24.7 [13.4-144.5]**	-	14.6 [12.7-28.4]**	-	32.0 [4.9-68.1]*	50.3 [16.9-148.5]	-	59.2 [12.4-137.7]	-	121.6 [6.4-320.6]	

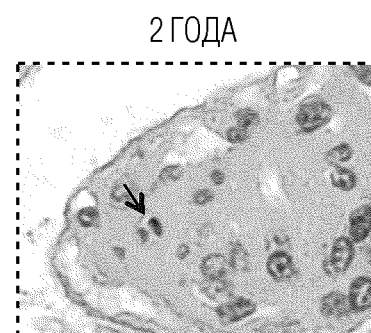
ДАННЫЕ ПРЕДСТАВЛЯЮТ СОБОЙ СРЕДНЕЕ ± SD ИЛИ МЕДИАНУ [IQR]. Т-КРИТЕРИЙ СТЬЮДЕНТА ИЛИ КРИТЕРИЙ ЗНАКОВЫХ РАНГОВ, ПО СРАВНЕНИЮ С ИСХОДНОЙ ТОЧКОЙ (0А): *p<0,05, **p<0,01.

ФИГ. 7

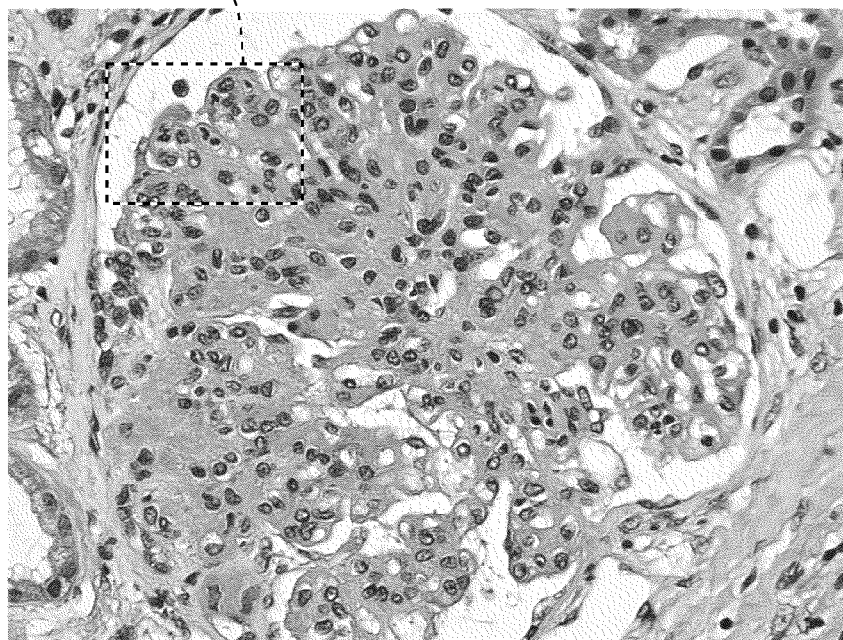
ФИГ. 8В



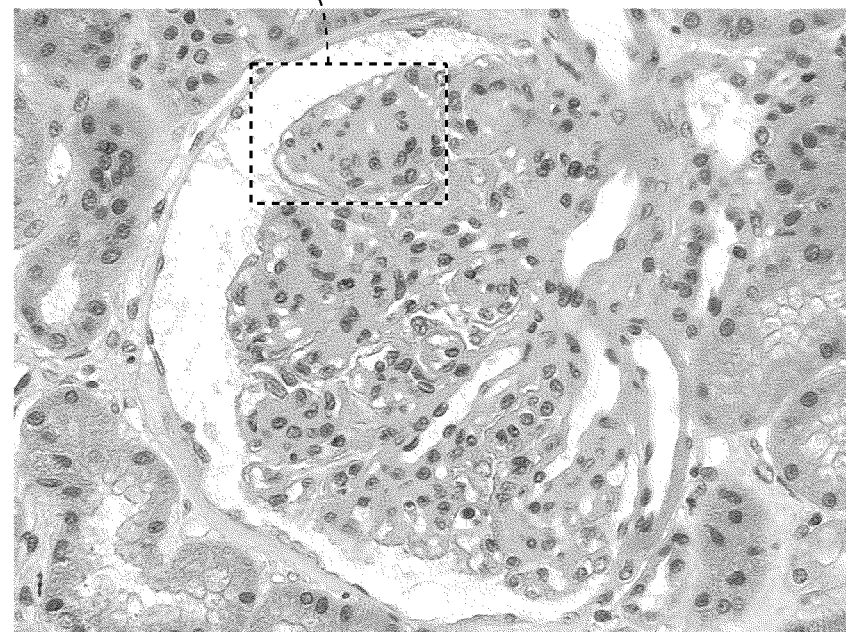
ФИГ. 8D



ФИГ. 8В-



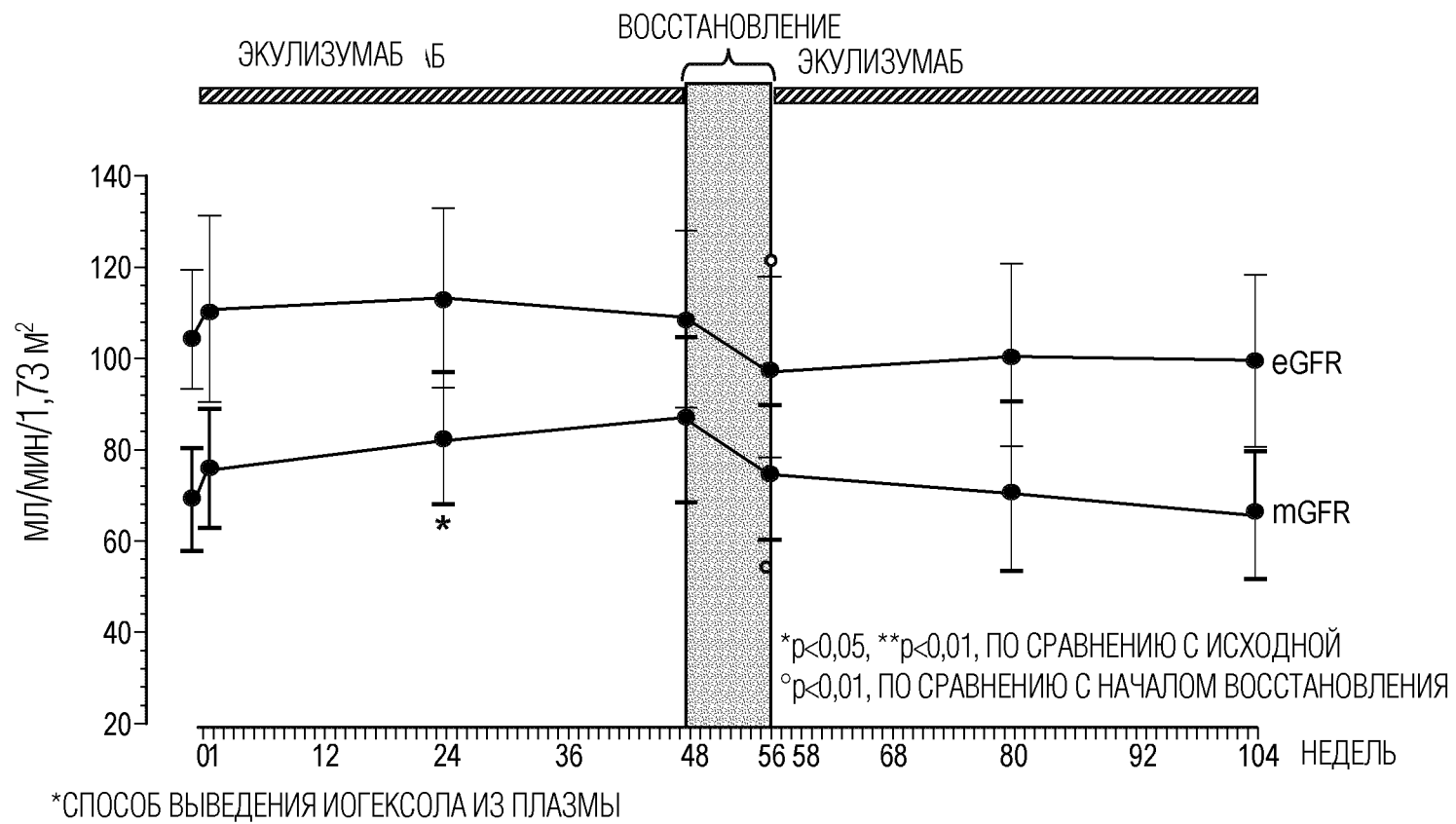
ФИГ. 8D-



↘ ЭНДОКАПИЛЛЯРНЫЕ ЛЕЙКОЦИТЫ (НЕЙТРОФИЛЫ)

ФИГ. 8А

ФИГ. 8С



ФИГ. 9

