

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202091037** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.09.29

(22) Дата подачи заявки
2018.11.05

(51) Int. Cl. *A61K 38/45* (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
C12N 9/10 (2006.01)
C12N 15/54 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01)

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ СЕРДЦА, СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ И СВЯЗАННЫХ С НИМИ СОСТОЯНИЙ И СИМПТОМОВ И ЗАЩИТЫ ОТ НИХ

(31) **62/582,382; 62/629,900**

(32) **2017.11.07; 2018.02.13**

(33) **US**

(86) **PCT/IB2018/058683**

(87) **WO 2019/092584 2019.05.16**

(71) Заявитель:
АЛФАКОР ФАРМА ЛЛС (US)

(72) Изобретатель:
**Джордж, мл., Ричард Томас, Цзинь
Чао-Юй (US)**

(74) Представитель:
**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)**

(57) Представлены способы лечения субъектов, у которых имеется заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы или имеется риск их возникновения, с помощью определенных терапевтически эффективных доз и схем введения доз, предусматривающие выделенный и очищенный фермент лецитин-холестерин-ацилтрансферазу (LCAT), в частности рекомбинантный фермент LCAT человека (rhLCAT), например MEDI6012. Способы, включающие введение описанных доз rhLCAT, повышают уровни липопротеинов высокой плотности (HDL) и аполипопротеина A1 (apoA1) в сыворотке крови и снижают или существенно не повышают уровни аполипопротеина В в сыворотке крови у субъектов, подлежащих лечению, за счет чего обеспечивается лечение заболевания сердца, заболеваний, связанных с сердцем, и заболевания коронарных артерий. Способы, включающие описанные схемы введения доз и дозы rhLCAT или MEDI6012, вводимые субъекту, дополнительно обеспечивают защиту сердца, миокарда и сердечно-сосудистой системы субъекта, включая защиту от ишемического инсульта, апоптоза миокардиоцитов, прогрессирования атеросклероза и им подобных.

A1

202091037

202091037

A1

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ СЕРДЦА, СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ И СВЯЗАННЫХ С НИМИ СОСТОЯНИЙ И СИМПТОМОВ И ЗАЩИТЫ ОТ НИХ

ПРЕДПОСЫЛКИ К СОЗДАНИЮ ИЗОБРЕТЕНИЯ

По данным Всемирной организации здравоохранения сердечно-сосудистые заболевания являются основными причинами заболеваемости и смертности во всем мире. В 2015 году в мире зарегистрировали примерно 17,7 миллиона случаев летальных исходов по причине сердечно-сосудистых заболеваний, что составляет 31 процент от всех летальных случаев в мире за этот год. По оценкам 7,4 миллиона среди данных смертей были вызваны ишемической болезнью сердца (CHD), а 6,7 миллиона были вызваны инсультом. По данным Центров контроля и профилактики заболеваний заболевания сердца остаются основной причиной смертности как среди мужчин, так и среди женщин большинства этнических групп в Соединенных Штатах, при этом ежегодно регистрируют приблизительно 630000 случаев смерти. Ишемическая болезнь сердца является наиболее распространенным типом заболевания сердца в США; в 2015 году на ее долю пришлось более 360000 смертей. По прогнозам заболевания сердца и связанные с ними коронарные заболевания и синдромы будут оставаться основными причинами глобальной смертности в течение следующего десятилетия и в последующие годы.

Заболевания сердца и коронарных артерий поражают не только пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, но и также представляют собой серьезную проблему для здоровья людей, страдающих от метаболических нарушений, таких как ожирение и/или диабет, которые часто приводят к повышенному риску сердечно-сосудистых заболеваний. Заболевания сердца и связанные с ними состояния здоровья приносят огромные экономические потери, поскольку затраты на медицинские услуги, лекарства и потерю производительности труда у пострадавших людей в США ежегодно составляют приблизительно 200 миллиардов долларов.

Атеросклероз у людей представляет собой патологическое состояние, которое характеризуется накоплением холестерина в артериях. Холестерин накапливается в пенистых клетках, находящихся в стенке артерий, сужая просвет этих сосудов и вызывая замедление кровотока. Развитие атеросклероза обратно пропорционально концентрации липопротеинов высокой плотности (HDL) в сыворотке крови, например низкие концентрации HDL связаны с повышенным риском развития сердечно-сосудистого заболевания.

Лецитин-холестерин-ацилтрансфераза (LCAT), плазменный фермент, секретируемый печенью, катализирует синтез сложных эфиров холестерина (CE) из свободного холестерина и фосфатидилхолина (лецитина). Было высказано предположение о том, что LCAT играет роль в процессе обратного транспорта холестерина (RCT). На первой стадии RCT свободный холестерин выводится из макрофагов в бляшке посредством аденозинтрифосфат (АТФ)-связывающего кассетного транспортера А1 (ABCA1) к плазменным акцепторам, таким как пре β -HDL, и к другим меньшим корпускулярным формам HDL. LCAT превращает свободный холестерин в составе HDL в CE, повышает способность HDL удалять избыточный холестерин из тканей и поддерживает градиент для выведения холестерина из клеток. Хотя роль LCAT в процессе RCT согласуется с обнаруженной низкой активностью LCAT и повышенным уровнем пре β -HDL у пациентов с заболеваниями сердца, существуют противоречивые данные и результаты, касающиеся функциональных взаимосвязей между HDL, LCAT и заболеваниями сердца у пациентов.

С учетом постоянно растущего числа людей, страдающих заболеваниями сердца и коронарных артерий, и их воздействия в глобальном масштабе срочно необходимы способы лечения, которые сокращают число заболеваний сердца различных типов или облегчают их течение, включая заболевание коронарных артерий, а также риск возникновения данных состояний. Недавно разработанные терапевтические и протективные способы лечения, описанные в данном документе, обеспечивают жизненно важные и необходимые средства терапии для людей с острыми и хроническими заболеваниями сердца, СНД, заболеванием коронарных артерий и т. п.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Как описано ниже, в настоящем изобретении раскрыты терапевтические и превентивные способы лечения субъекта, в частности субъекта-млекопитающего, и более конкретно субъекта-человека, у которого имеются хроническое или острое заболевание сердца, заболевания, связанные с сердцем, ишемическая болезнь сердца, сердечно-сосудистое заболевание, цереброваскулярное заболевание, атеросклеротическое заболевание и/или их симптомы, с помощью эффективных доз и схем введения доз выделенного и очищенного фермента лецитин-холестерин-ацилтрансферазы (LCAT), в частности выделенного и очищенного LCAT человека или полученного рекомбинантным путем (рекомбинантного) LCAT человека (rhLCAT), называемого MEDI6012 в данном документе. Описанные способы охватывают использование фермента LCAT, в частности

фермента LCAT человека, который выделен из и очищен от его естественной среды или рекомбинантных клеточных материалов. Выделенный и очищенный фермент LCAT человека охватывает фермент rhLCAT. В данном документе в конкретном варианте осуществления фермент rhLCAT называется MEDI6012. Следует понимать, что термины "выделенный и очищенный LCAT человека", "LCAT", "rhLCAT" и MEDI6012 могут использоваться в данном документе взаимозаменяемо.

В организме фермент LCAT обнаруживается в кровотоке и существует в качестве ключевого фактора в системе обратного транспорта холестерина (RCT), которая, как полагают, имеет важное значение для выведения из организма избытка холестерина. Также считается, что LCAT играет ключевую роль в системном контроле уровней липопротеинов высокой плотности (HDL) или "хорошего" холестерина в сыворотке и плазме крови. Поскольку процесс накопления холестерина в сердечно-сосудистых и периферических артериях может привести к атеросклерозу и его клиническим последствиям (таким как, например, сердечный приступ (также известный как инфаркт миокарда (MI)), ишемическая болезнь сердца, инсульт, ишемический инсульт, заболевания периферических сосудов и их симптомы), снижение, замедление или устранение процесса системного накопления холестерина в организме эффективно в лечении или предупреждении заболеваний сердца и атеросклероза.

Способы, описанные в данном документе, обеспечивают пользу терапевтического лечения, а также протективные эффекты при заболеваниях сердца, заболеваниях, связанных с сердцем, и сердечно-сосудистых заболеваниях и их симптомах за счет обеспечения дозы и схем введения доз выделенного и очищенного фермента LCAT, который вводят субъектам с тем, чтобы системно повысить уровни активности LCAT в сыворотке (или плазме) крови у субъектов, подвергаемых лечению, что в свою очередь, уменьшит (например, замедлит, снизит или устранил) накопление свободного или неэтерифицированного холестерина в артериях у субъектов, проходящих лечение. Кроме того, способы по настоящему изобретению предлагают другие кардиотерапевтические, кардиопротективные и антиатерогенные (атеропротективные) эффекты и миокардиопротективные эффекты за счет предупреждения фиброза и гипертрофии миокарда у субъекта, как это описано в данном документе.

В соответствии с настоящим изобретением использование выделенного и очищенного фермента LCAT, т. е. rhLCAT или MEDI6012, в эффективных величинах доз и схемах введения доз, описанных в данном документе и используемых в способах по

настоящему изобретению, обеспечивает как терапию первой линии субъекту с вышеупомянутыми сердечными и сердечно-сосудистыми заболеваниями и/или их симптомами и эффективную поддерживающую терапию и лечение субъекту с различными формами данных заболеваний и симптомов. Способы, описанные в данном документе, обеспечивают преимущества стандартному лечению (SoC) заболеваний сердца, связанных с сердцем и сердечно-сосудистых заболеваний и состояний, а также могут обеспечивать пользу терапевтического лечения субъектам, у которых произошел рецидив после использования другой схемы сердечной или сердечно-сосудистой терапии.

В одном аспекте, описанном в данном документе, представлен способ лечения заболевания сердца или сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов у субъекта, при этом способ предусматривает введение нуждающемуся в этом субъекту одной или нескольких доз выделенного и очищенного фермента LCAT в количестве 20–2000 мг в течение периода времени, составляющего приблизительно или равного 1 минуте – 3 часам, с целью лечения у субъекта заболевания сердца или сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов. В одном варианте осуществления данного способа выделенный и очищенный фермент LCAT представляет собой рекомбинантный фермент LCAT (rhLCAT) человека или MEDI6012. В ряде вариантов осуществления способа у субъекта имеется острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, нестабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS), сердечная недостаточность (HF), застойная HF, HF с госпитализацией, сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса (EF), сердечная недостаточность с сохраненной EF, инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI), инфаркт миокарда без подъема сегмента ST (non-STEMI) или заболевание, патология или состояние, связанные или ассоциированные с сердцем или заболеванием сердца, с наследственной предрасположенностью или приобретенные, такие как инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, ишемическая кардиомиопатия, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы. В конкретном варианте осуществления у субъекта имеется стабильное заболевание коронарных артерий (CAD). В конкретных вариантах осуществления способа одна или несколько доз фермента LCAT, вводимые субъекту,

представлены в количестве, выбранном из 20 мг, 24 мг, 40 мг, 80 мг, 100 мг, 150 мг, 240 мг, 300 мг, 600 мг, 800 мг или 1600 мг. В других конкретных вариантах осуществления способа одну или несколько доз фермента LCAT вводят субъекту в количестве, выбранном из 300 мг, 150 мг и 100 мг. В одном варианте осуществления способа одна или несколько доз LCAT предусматривают первую дозу, представленную в количестве 300 мг, и вторую дозу, представленную в количестве 150 мг, вводимую через приблизительно 48 часов \pm 8 часов после первой дозы. В другом варианте осуществления способа одна или несколько доз LCAT предусматривают первую дозу в количестве 300 мг; вторую дозу в количестве 150 мг, вводимую через приблизительно 48 часов \pm 8 часов после первой дозы; и третью дозу в количестве 100 мг, вводимую через приблизительно одну неделю после второй дозы. В еще одном варианте осуществления способа одна или несколько доз LCAT предусматривают первую дозу в количестве 300 мг; вторую дозу в количестве 150 мг, вводимую через приблизительно 48 часов \pm 8 часов после первой дозы; и по меньшей мере четыре последовательных дозы в количествах 100 мг на дозу, вводимые примерно раз в неделю после второй дозы. В одном варианте осуществления способа одну или несколько доз LCAT вводят субъекту внутривенно. В одном варианте осуществления одну или несколько доз LCAT вводят субъекту посредством в/в струйного введения. В одном варианте осуществления LCAT вводят субъекту внутривенно в течение периода времени, составляющего от приблизительно 30 минут до 1 часа. В одном варианте осуществления LCAT вводят субъекту путем в/в струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты. В другом варианте осуществления LCAT вводят субъекту в одной дозе в количестве 300 мг. В одном варианте осуществления одну дозу LCAT вводят субъекту путем в/в струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты. В другом варианте осуществления LCAT вводят субъекту в двух дозах, из которых первая доза представлена в количестве 300 мг, а вторая доза представлена в количестве 150 мг. В другом варианте осуществления LCAT вводят субъекту в трех дозах, из которых первая доза представлена в количестве 300 мг; вторая доза представлена в количестве 150 мг; а третья доза представлена в количестве 100 мг. В другом варианте осуществления LCAT вводят субъекту в шести дозах, из которых первая доза представлена в количестве 300 мг; вторая доза представлена в количестве 150 мг; и дозы от третьей до шестой представлены в количестве 100 мг. В одном варианте осуществления способа вторую дозу LCAT вводят субъекту в течение приблизительно 48 часов \pm 8 часов после первой дозы. В другом варианте осуществления

способа третью дозу LCAT вводят субъекту в течение приблизительно недели после второй дозы. В одном варианте осуществления вторую дозу LCAT вводят субъекту в течение приблизительно 48 часов \pm 8 часов после первой дозы; третью дозу LCAT вводят субъекту в течение приблизительно недели после второй дозы; а дозы LCAT от четвертой до шестой затем вводят примерно раз в неделю. В одном варианте осуществления вышеизложенного по меньшей мере первую дозу LCAT вводят субъекту путем в/в струйного введения. В другом варианте осуществления LCAT вводят субъекту посредством подкожной (п/к) инъекции, например, в дозе 80 или 600 мг. В одном варианте осуществления введение LCAT путем п/к инъекции в дозе 600 мг повышает эндогенные уровни аполипопротеина A1 (apoA1) у субъекта. В другом варианте осуществления описанного выше способа введение LCAT повышает эндогенные уровни холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-C) и/или аполипопротеина A1 (apoA1) у субъекта. В другом варианте осуществления способа введение LCAT не повышает эндогенные уровни аполипопротеина B (apoB) у субъекта. В одном варианте осуществления любого из вышеизложенных выделенный и очищенный LCAT представляет собой рекомбинантный LCAT человека (rhLCAT). В конкретном варианте осуществления rhLCAT представляет собой MEDI6012 (SEQ ID NO: 2).

В другом аспекте, описанном в данном документе, представлен способ лечения заболевания сердца или сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов у субъекта, при этом способ предусматривает введение нуждающемуся в этом субъекту нагрузочной дозы выделенного и очищенного фермента LCAT в количестве 250–500 мг, доставляемом субъекту путем внутривенного (в/в) струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–5 минут, при поступлении субъекта для лечения. В одном варианте осуществления способа нагрузочную дозу LCAT вводят субъекту в количестве 300 мг. В другом варианте осуществления способа нагрузочную дозу LCAT вводят субъекту в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты. В другом варианте осуществления способа нагрузочную дозу LCAT вводят субъекту в течение периода времени, составляющего приблизительно 1 минуту. В другом варианте осуществления способа одну или несколько доз LCAT вводят субъекту после нагрузочной дозы. В одном варианте осуществления дозу LCAT в количестве 100–200 мг вводят субъекту после нагрузочной дозы. В другом варианте осуществления дозу LCAT в количестве 150 мг вводят субъекту после нагрузочной дозы. В другом варианте осуществления дозу LCAT в количестве 100–150 мг вводят субъекту после дозы,

составляющей 100–200 мг или 150 мг. В другом варианте осуществления дозу LCAT в количестве 100 мг вводят субъекту после дозы, составляющей 100–200 мг или 150 мг. В другом варианте осуществления способа субъекту вводят по меньшей мере 4 еженедельные дозы LCAT в количестве 80–150 мг на дозу через приблизительно одну неделю после дозы, составляющей 100–200 мг, или дозы, составляющей 150 мг. В другом варианте осуществления способа субъекту вводят по меньшей мере 4 еженедельные дозы LCAT в количестве 100 мг на дозу приблизительно через одну неделю после дозы, составляющей 100–200 мг, или дозы, составляющей 150 мг. В другом варианте осуществления одну или несколько доз LCAT, следующих после нагрузочной дозы, вводят субъекту внутривенно. В одном варианте осуществления способа выделенный и очищенный LCAT представляет собой рекомбинантный LCAT (rhLCAT) человека. В конкретном варианте осуществления rhLCAT представляет собой MEDI6012 (SEQ ID NO: 2).

Специалисту в данной области техники будет понятно, что описанные способы, которые включают нагрузочную дозу фермента LCAT, такого как rhLCAT или MEDI6012, и в частности нагрузочную дозу, вводимую субъекту в виде в/в струйного введения в течение 1–3 минут, способствуют лечению заболеваний и состояний, при которых время имеет существенное значение. Как описано и приведено в качестве примера в данном документе, использование описанных доз и схем введения доз rhLCAT или MEDI6012, включая нагрузочную дозу, пациенту может повышать уровни HDL-C у пациента в течение нескольких минут. Таким образом, способы по настоящему изобретению обеспечивают дозы активного средства, rhLCAT или MEDI6012, которые быстро повышают уровни эндогенных продуктов, таких как HDL-C и/или apoA1, с достижением терапевтического и протективного лечения пациента, страдающего от острого заболевания, такого как без ограничения острый MI, инсульт или острая почечная недостаточность. Соответственно, введение rhLCAT или MEDI6012 является весьма выгодным и оптимальным для пациентов, которые нуждаются в срочном лечении острого заболевания, патологии или травмы в неотложном порядке.

В другом аспекте, описанном в данном документе, представлен способ лечения заболевания сердца или сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов у субъекта, при этом способ предусматривает парентеральное введение нуждающемуся в этом субъекту двух или более доз выделенного и очищенного фермента LCAT, где каждая доза содержит LCAT в количестве 20–500 мг, с целью лечения заболевания сердца или

сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов у субъекта. В одном варианте осуществления способа две или более доз LCAT, вводимые субъекту, представлены в количестве, выбранном из 300 мг, 150 мг или 100 мг. В одном варианте осуществления три дозы LCAT вводят субъекту и они предусматривают дозу, составляющую 300 мг, вводимую в день 1; дозу, составляющую 150 мг, вводимую в день 3; дозу, составляющую 100 мг, вводимую в день 10; и где необязательно последующие дозы LCAT вводят субъекту с предварительно заданными временными интервалами до приблизительно 30 дней или дольше после дозы, введенной в день 10. В некоторых других вариантах осуществления последующие дозы LCAT, например 6 доз, как это описано в данном документе, вводят субъекту через предварительно заданные промежутки времени, например еженедельно, после дозы, полученной в день 10. В одном варианте осуществления LCAT вводят субъекту внутривенно путем внутривенного струйного введения и/или внутривенной инфузии. В одном варианте осуществления у субъекта имеется острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, нестабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS), инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, инфаркт миокарда с наследственной предрасположенностью или приобретенный, сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса (EF), сердечная недостаточность с сохраненной EF, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы. В одном варианте осуществления выделенный и очищенный LCAT представляет собой рекомбинантный LCAT (rhLCAT) человека. В конкретном варианте осуществления rhLCAT представляет собой MEDI6012 (SEQ ID NO: 2). В другом конкретном варианте осуществления у подвергаемого лечению субъекта имеется стабильное CVD.

В еще одном аспекте, описанном в данном документе, представлен способ лечения заболевания сердца или сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов у субъекта, при этом способ предусматривает введение внутривенно нуждающемуся в этом субъекту первой дозы выделенного и очищенного фермента лецитин-холестерин-ацилтрансферазы (LCAT) в количестве 200–500 мг и введение внутривенно субъекту второй дозы фермента LCAT в количестве 100–200 мг в течение примерно 48 часов \pm 8 часов после первой дозы с целью лечения у субъекта заболевания сердца или сердечно-

сосудистого заболевания и/или их симптомов. В одном варианте осуществления способа первая доза LCAT составляет 300 мг, а вторая доза LCAT составляет 100 мг или 150 мг. В конкретном варианте осуществления первая доза LCAT составляет 300 мг, а вторая доза LCAT составляет 150 мг. В одном варианте осуществления способа по меньшей мере первую дозу LCAT вводят субъекту путем в/в струйного введения. В конкретном варианте осуществления способа введение путем в/в струйного введения осуществляют в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты. В одном варианте осуществления способ дополнительно предусматривает введение внутривенно субъекту дозы LCAT в количестве 100–150 мг через приблизительно одну неделю после второй дозы. В конкретном варианте осуществления доза LCAT, вводимая субъекту, через приблизительно неделю после введения второй дозы, представлена в количестве 100 мг. В одном варианте осуществления способ дополнительно предусматривает введение внутривенно субъекту по меньшей мере четырех еженедельных доз LCAT в количестве 100–200 мг после введения второй дозы. В конкретном варианте осуществления по меньшей мере четыре еженедельные дозы LCAT представлены в количестве 100 мг после введения второй дозы. В одном варианте осуществления выделенный и очищенный LCAT представляет собой рекомбинантный LCAT (rhLCAT) человека. В конкретном варианте осуществления rhLCAT представляет собой MEDI6012 (SEQ ID NO: 2). В ряде вариантов осуществления у субъекта имеется острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, нестабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS), инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, инфаркт миокарда с наследственной предрасположенностью или приобретенный, сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса (EF), сердечная недостаточность с сохраненной EF, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы.

В еще одном аспекте, описанном в данном документе, представлен способ лечения заболевания сердца или сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов у субъекта, при этом способ предусматривает введение нуждающемуся в этом субъекту первой дозы выделенного и очищенного фермента лецитин-холестерин-ацилтрансферазы (LCAT) MEDI6012 в количестве 200–500 мг; введение внутривенно субъекту второй дозы фермента LCAT MEDI6012 в количестве 100–200 мг в момент времени приблизительно 48

часов \pm 8 часов после первой дозы; и введение внутривенно субъекту третьей дозы фермента LCAT MEDI6012 в количестве 100–150 мг в момент времени от приблизительно 7 до 10 дней после второй дозы с целью лечения у субъекта заболевания сердца или сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов. В одном варианте осуществления способа первая доза фермента LCAT MEDI6012 составляет 300 мг; вторая доза MEDI6012 составляет 150 мг; и третья доза MEDI6012 составляет 100 мг. В одном варианте осуществления способа по меньшей мере первую дозу фермента LCAT MEDI6012 вводят субъекту путем в/в струйного введения.

В еще одном аспекте, описанном в данном документе, представлен способ повышения эндогенных уровней холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-C) и/или аполипопротеина A1 (apoA1) у субъекта, у которого имеется заболевание сердца или сердечно-сосудистое заболевание и/или их симптомы, при этом способ предусматривает введение внутривенно субъекту первой нагрузочной дозы рекомбинантного фермента LCAT человека (rhLCAT) MEDI6012 в количестве 300 мг путем внутривенного (в/в) струйного введения за период времени, составляющий приблизительно 1–5 минут; внутривенное введение субъекту второй дозы фермента LCAT MEDI6012 в количестве 150 мг в момент времени приблизительно 48 часов \pm 8 часов после первой дозы; и внутривенное введение субъекту третьей дозы фермента LCAT MEDI6012 в количестве 100 мг в момент времени приблизительно 7 дней после второй дозы с целью лечения заболевания сердца или сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов с повышением эндогенных уровней холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-C) и/или аполипопротеина A1 (apoA1) у субъекта, за счет чего осуществляется лечение заболевания сердца или сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов. В одном варианте осуществления способа первую и последующие дозы MEDI6012 вводят субъекту путем в/в струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты.

В одном варианте осуществления любого из вышеуказанных аспектов или любого аспекта способов, описанных в данном документе, у субъекта имеется острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, нестабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS), сердечная недостаточность (HF), застойная HF, HF с госпитализацией, сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса (EF),

сердечная недостаточность с сохраненной EF, инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI), инфаркт миокарда без подъема сегмента ST (non-STEMI) или заболевание, патология или состояние, связанные или ассоциированные с сердцем или заболеванием сердца, с наследственной предрасположенностью или приобретенные, такие как инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, ишемическая кардиомиопатия, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы. В конкретном варианте осуществления у субъекта, подвергаемого лечению, имеется стабильное CVD.

В одном варианте осуществления любого из вышеуказанных аспектов или любого аспекта способов, изложенных в данном документе, дозу (или первую дозу) выделенного и очищенного фермента LCAT или MEDI6012 вводят субъекту немедленно, например, в течение периода, составляющего приблизительно 1–5 минут или равного ему, или периода, составляющего приблизительно 1–3 минуты или равного ему, при поступлении субъекта в медицинское учреждение (больницу, клинику, центр неотложной медицинской помощи, кабинет врача и т. п.).

В одном варианте осуществления любого из вышеуказанных аспектов или любого аспекта способов, изложенных в данном документе, введение выделенного и очищенного фермента LCAT или MEDI6012 повышает эндогенные уровни холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-C) и/или аполипопротеина A1 (apoA1) у субъекта после введения. В других вариантах осуществления способов введения LCAT снижает или не изменяет и не повышает уровни аполипопротеина B (apoB) у субъекта после введения. В другом варианте осуществления способов согласно любому из вышеизложенных аспектов введение выделенного и очищенного фермента LCAT или MEDI6012 не повышает эндогенный холестерин липопротеинов низкой плотности (LDL-C) и незначительно повышает или вообще не повышает уровень очень крупных частиц HDL (VL-HDL) и чрезвычайно крупных частиц HDL (VVL-HDL).

В одном варианте осуществления любого из вышеуказанных аспектов или любого аспекта способов, изложенных в данном документе, введение выделенного и очищенного LCAT или MEDI6012 обеспечивает миокардиопротективный эффект за счет предотвращения гибели клеток миокарда и уменьшения размера атеросклеротической бляшки у субъекта. В одном варианте осуществления любого из вышеуказанных аспектов или любого аспекта способов, изложенных в данном документе, введение выделенного и

очищенного LCAT или MEDI6012 обеспечивает миокардиопротективный эффект за счет предотвращения фиброза и гипертрофии миокарда.

В одном варианте осуществления любого из вышеуказанных аспектов или любого аспекта способов, изложенных в данном документе, субъект, подвергаемый лечению, принимает лекарственное средство из группы статинов.

В одном варианте осуществления любого из вышеуказанных аспектов или любого аспекта способов, изложенных в данном документе, выделенный и очищенный фермент LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту в комбинации с одним или несколькими терапевтическими лекарственными средствами, препаратами или соединениями. В одном варианте осуществления одно или несколько терапевтических лекарственных средств, препаратов или соединений представляет собой статин, ингибитор фермента пропротеин-конвертазы субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9) (PCSK9i) или другое гипохолестеринемическое средство. В конкретных вариантах осуществления способа лекарственное средство из группы статинов, ингибитор PCSK9 или другое гипохолестеринемическое средство выбрано из аторвастатина (LIPITOR), флувастатина (LESCOL), ловастатина (MEVACOR, ALTOPREV), питавастатина (LIVALO), правастатина (PRAVACHOL), розувастатина (CRESTOR), симвастатина (ZOCOR), эволокумаба (REPATHA[®]) или алирокумаба (PRALUENT[®]). В ряде вариантов осуществления способа LCAT или MEDI6012 вводят субъекту до, одновременно, после или в другое время по отношению к введению одного или нескольких терапевтических средств, препаратов или соединений.

В еще одном аспекте, описанном в данном документе, представлен способ обеспечения кардиотерапевтического, миокардиопротективного и антиатерогенного эффектов у субъекта, при этом способ предусматривает введение субъекту, у которого имеется заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание и/или их симптомы, парентеральной дозы выделенного и очищенного фермента LCAT в дозе 80–500 мг, где эндогенные уровни HDL-C повышаются у субъекта в течение от приблизительно 1 минуты до по меньшей мере 6 часов и/или эндогенные уровни apoA1 повышаются в течение приблизительно 12–24 часов после введения LCAT субъекту. В одном варианте осуществления способа введение LCAT обеспечивает кардиотерапевтический, миокардиопротективный и антиатерогенный эффекты за счет предотвращения фиброза и гипертрофии миокарда у субъекта. В конкретном варианте осуществления способа LCAT вводят в дозе 300 мг. В другом варианте осуществления способ дополнительно

предусматривает введение субъекту второй дозы LCAT в количестве 125–250 мг в момент времени приблизительно 48 часов \pm 8 часов после введения парентеральной дозы. В конкретном варианте осуществления вторую дозу LCAT вводят субъекту в количестве 150 мг. В другом варианте осуществления способа эндогенные уровни HDL-C и/или apoA1 остаются повышенными в течение по меньшей мере 14 дней после введения LCAT. В одном варианте осуществления способа LCAT вводят субъекту внутривенно. В конкретном варианте осуществления способа парентеральную дозу LCAT вводят субъекту путем в/в струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты. В ряде вариантов осуществления способа у субъекта имеется острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, нестабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS), сердечная недостаточность (HF), застойная HF, HF с госпитализацией, сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса (EF), сердечная недостаточность с сохраненной EF, инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI), инфаркт миокарда без подъема сегмента ST (non-STEMI) или заболевание, патология или состояние, связанные или ассоциированные с сердцем или заболеванием сердца, с наследственной предрасположенностью или приобретенные, такие как инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, ишемическая кардиомиопатия, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы. В ряде вариантов осуществления способ дополнительно обеспечивает кардиотерапевтические, кардиопротективные и антиатерогенные эффекты и миокардиопротективные эффекты за счет предотвращения фиброза и гипертрофии миокарда. В одном варианте осуществления способа выделенный и очищенный LCAT представляет собой рекомбинантный LCAT (rhLCAT) человека. В конкретном варианте осуществления rhLCAT представляет собой MEDI6012 (SEQ ID NO: 2).

В одном варианте осуществления любого из вышеуказанных аспектов или любого аспекта способов, изложенных в данном документе, эндогенные уровни HDL-C и/или apoA1 повышаются в образце, полученном от субъекта (например, в сыворотке крови или плазме крови), в течение от приблизительно 90 минут до 6 часов после введения LCAT или MEDI6012. В одном варианте осуществления эндогенные уровни HDL-C и/или apoA1

повышаются на примерно 50% в сыворотке крови или плазме крови у субъекта в течение приблизительно 90 минут и/или эндогенные уровни HDL-C повышаются на по меньшей мере 90% в сыворотке крови или плазме крови у субъекта к моменту времени приблизительно 6 часов после введения LCAT или MEDI6012 относительно контрольных уровней. В еще одном варианте осуществления уровни apoA1 остаются повышенными в течение по меньшей мере 7 дней у субъекта (что выявлено в сыворотке крови или плазме крови у субъекта) после введения LCAT или MEDI6012.

В одном варианте осуществления любого из вышеуказанных аспектов или любого аспекта способов, изложенных в данном документе, введение LCAT или MEDI6012 защищает субъекта от развития или прогрессирования одного или нескольких из инсульта, ишемического инсульта, повреждения миокарда, повреждения почек, повреждения печени или увеличения размера инфаркта. В одном варианте осуществления любого из вышеуказанных аспектов или любого аспекта способов, изложенных в данном документе, выделенный и очищенный LCAT представляет собой рекомбинантный фермент LCAT человека (rhLCAT) или MEDI6012.

В еще одном аспекте, описанном в данном документе, представлен способ повышения эндогенных концентраций холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-C) и/или аполипопротеина A1 (apoA1) без повышения (то есть со снижением или с незначительным повышением или без него) эндогенных концентраций аполипопротеина B (apoB) у субъекта, у которого имеется заболевание сердца, заболевание, связанное с сердцем, заболевание коронарных артерий и/или их симптомы или имеется риск их возникновения, при этом способ предусматривает введение внутривенно субъекту первой дозы выделенной и очищенной лецитин-холестерин-ацилтрансферазы (LCAT), рекомбинантной лецитин-холестерин ацилтрансферазы человека (rhLCAT) или MEDI6012 в количестве от 40 до 500 мг при поступлении субъекта на прием к медицинскому специалисту или в медицинское учреждение и внутривенное введение субъекту второй дозы и по меньшей мере одной последующей поддерживающей дозы LCAT, rhLCAT или MEDI6012 в количестве 40–300 мг с предварительно заданными интервалами после введения первой дозы. В одном варианте осуществления способа первую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту в количестве, выбранном из 24 мг, 40 мг, 120 мг, 150 мг или 300 мг. В конкретном варианте осуществления способа первую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту в количестве 300 мг. В другом конкретном варианте осуществления способа первую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят

субъекту путем в/в струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты. В другом варианте осуществления способа вторую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту в количестве, выбранном из 40 мг, 80 мг, 100 мг, 120 мг или 150 мг. В конкретном варианте осуществления способа вторую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту в количестве 150 мг. В одном варианте осуществления способа вторую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту через приблизительно 48 часов \pm 8 часов после введения первой дозы. В другом варианте осуществления способа по меньшей мере одну последующую поддерживающую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту в количестве, выбранном из 40 мг, 80 мг, 100 мг, 120 мг или 150 мг после введения второй дозы. В конкретном варианте осуществления по меньшей мере одну последующую поддерживающую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту в количестве 100 мг. В другом варианте осуществления способа по меньшей мере одну последующую поддерживающую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту через приблизительно неделю после введения второй дозы. В другом варианте осуществления способа по меньшей мере одну последующую поддерживающую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту путем в/в струйного введения. В конкретном варианте осуществления MEDI6012 (SEQ ID NO: 2) вводят субъекту. В других вариантах осуществления способа у субъекта имеется острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, нестабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS), сердечная недостаточность (HF), застойная HF, HF с госпитализацией, сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса (EF), сердечная недостаточность с сохраненной EF, инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI), инфаркт миокарда без подъема сегмента ST (non-STEMI) или заболевания, патологии или состояния, связанные или ассоциированные с сердцем или заболеванием сердца, с наследственной предрасположенностью или приобретенные, такие как инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, ишемическая кардиомиопатия, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы или имеется риск их возникновения. В другом варианте

осуществления способа субъект одновременно получает лекарственное средство из группы статинов, ингибитор PCSK9 или гиполипидемическую лекарственную терапию.

Настоящее изобретение также предусматривает LCAT, в том числе rhLCAT и MEDI6012, с целью применения в лечении субъекта с заболеванием сердца или сердечно-сосудистым заболеванием и/или их симптомами в соответствии со способами, раскрытыми в данном документе. В настоящем изобретении также представлено использование LCAT, в том числе rhLCAT и MEDI6012, с целью изготовления лекарственного препарата, предназначенного для лечения субъекта с заболеванием сердца или сердечно-сосудистым заболеванием и/или их симптомами в соответствии со способами, раскрытыми в данном документе.

Другие признаки и преимущества настоящего изобретения станут очевидны из подробного описания и формулы изобретения.

Определения

Если не определено иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют значение в том смысле, в котором их обычно понимает специалист в области техники, к которой относится настоящее изобретение. Следующие ссылки предоставляют специалисту общее определение многих терминов, используемых в данном изобретении: Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology (2nd ed. 1994); The Cambridge Dictionary of Science and Technology (Walker ed., 1988); The Glossary of Genetics, 5th Ed., R. Rieger et al. (eds.), Springer Verlag (1991) и Hale & Marham, The Harper Collins Dictionary of Biology (1991). Используемые в данном документе следующие термины имеют значения, приписанные им ниже, если не указано иное.

Термин "средство" относится к белку, полипептиду, пептиду (или его фрагменту), молекуле нуклеиновой кислоте, низкомолекулярному соединению, лекарственному средству или препарату.

Под "ослаблением тяжести" подразумевается снижение, уменьшение, сокращение, угнетение, ослабление, остановка, подавление, блокирование или стабилизация развития или прогрессирования заболевания или состояния.

"Лецитин-холестерин-ацилтрансфераза (LCAT)" (также известная как фосфатидилхолин-стерол-ацилтрансфераза) представляет собой фермент, который играет роль во внеклеточном метаболизме липопротеинов плазмы крови и в удалении холестерина из крови и тканей. Синтезированный в печени и секретируемый в плазму крови фермент LCAT катализирует синтез сложных эфиров холестерина (CE) из

свободного холестерина и фосфатидилхолина (лецитина) и способствует транспортировке холестерина из крови и тканей. Поскольку LCAT является ответственным за продуцирование HDL-CE посредством этерификации свободного холестерина HDL-C, повышение уровней, функции и/или активности LCAT также повышает количество HDL-CE, доступное для доставки в ткани. У людей приблизительно 90% CE в плазме крови образуются с помощью LCAT, при этом реакция в основном происходит на липопротеинах высокой плотности (HDL) и называется α -LCAT-активностью, но в меньшей степени на частицах, содержащих аполипопротеин В (apoB) и называется β -LCAT-активностью. Этерификация холестерина посредством LCAT обеспечивает поддержание уровней HDL за счет способствования созреванию мелких дисковидных форм HDL (пре β -HDL и α_4 -HDL) в более крупные сферические формы HDL (α_{1-3} -HDL), которые имеют более длительные периоды полужизни. У людей большая часть HDL-CE в дальнейшем переносится в обмен на триглицериды на липопротеины очень низкой плотности (VLDL), липопротеины промежуточной плотности (IDL) и липопротеины низкой плотности (LDL) с помощью белка-транспортера сложных эфиров холестерина (СЕТР). Данный процесс приводит к образованию формы холестерина, которая более эффективно транспортируется липопротеинами, которые транспортируют холестерин обратно в печень, где холестерин перераспределяется в другие ткани или выводится из организма. Используемый в данном документе термин "фермент LCAT" относится к выделенному и очищенному ферменту LCAT, такому как рекомбинантный фермент LCAT человека (rhLCAT) или MEDI6012.

Под "полипептидом LCAT человека" подразумевается полипептид или его фрагмент, который характеризуется по меньшей мере приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичностью аминокислотной последовательности с последовательностью, изложенной под номером доступа UniProtKB P04180-1, или эталонной последовательности в NCBI: NP_000220.1, и обладающий ферментативной активностью и/или функцией LCAT. (SEQ ID NO: 1 ниже).

```

10    20    30    40    50
MGPPGSPWQW VLLLLGLLL PAAPFWLLNV LFPHTTPKA ELSNHTRPVI
60    70    80    90   100
LVPGCLGNQL EAKLDKPDVV NWMCYRKTED FFTIWLDLNM FLPLGVDCWI
110   120   130   140   150

```

DNTRVVYNRS SGLVSNAPGV QIRVPGFGKT YSVEYLDSSK LAGYLHTLVQ
 160 170 180 190 200
 NLVNNGYVRD ETVRAAPYDW RLEPGQEEY YRKLAGLVEE MHAAYGKPVF
 210 220 230 240 250
 LIGHSLGCLH LLYFLLRQPQ AWKDRFIDGF ISLGAPWGGS IKPMLVLASG
 260 270 280 290 300
 DNQGIPIMSS IKLKEEQRIT TTSPWMFPSR MAWPEDHVFI STPSFNVTGR
 310 320 330 340 350
 DFQRFFADLH FEEGWYMWLQ SRDLLAGLPA PGVEVYCLYG VGLPTPRTYI
 360 370 380 390 400
 YDHGFPYTDV VGVLYEDGDD TVATRSTELC GLWQGRQPQP VHLLPLHGIQ
 410 420 430 440
 HLNMFVSNLT LEHINAILLG AYRQGPPASP TASPEPPPPE
 (SEQ ID NO: 1)

Под "MEDI6012 (рекомбинантный полипептид LCAT человека (rhLCAT))" подразумевается полипептид из 416 аминокислот, представленный под SEQ ID NO: 2 ниже, или его фрагмент, обладающий ферментативной активностью и/или функцией LCAT, или полипептид или его фрагмент, характеризующийся по меньшей мере приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 2 и обладающий ферментативной активностью и/или функцией LCAT.

FWLLNVLFPP HTTPKAELSN HTRPVILVPG CLGNQLEAKL
 DKPDVVNWMC YRKTEDEFTI WLDLNMFLPL GVDCWIDNTR
 VVYNRSSGLV SNAPGVQIRV PGFGKTYSVE YLDSSKLAGY
 LHTLVQNLVN NGYVRDETVR AAPYDWRLEP GQEEYYRKL
 AGLVEEMHAA YGKPVFLIGH SLGCLHLLYF LLRQPQAWKD
 RFIDGFISLG APWGGSIKPM LVLASGDNQG IPIMSSIKLK
 EEQRITTTSP WMFPSRMAWP EDHVFISTPS FNYTGRDFQR
 FFADLHFEEG WYMWLQSRDL LAGLPAPGVE VYCLYGVGLP
 TPRTYIIDHG FPYTDVGVVL YEDGDDTVAT RSTELCGLWQ
 GRQPQPVHLL PLHGIQHLNM VFSNLTLEHI NAILLGAYRQ
 GPPASPTASP EPPPPE (SEQ ID NO: 2)

Полинуклеотидная кодирующая последовательность полипептида LCAT человека представлена ниже (1323 нуклеотида). Полинуклеотид или его фрагмент, характеризующийся по меньшей мере приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичностью нуклеотидной последовательности с последовательностью нуклеиновой кислоты LCAT человека под номером доступа NCBI CCDS 10854.1 (SEQ ID NO: 3 ниже) охвачены настоящим изобретением.

ATGGGGCCGCCCCGGCTCCCCATGGCAGTGGGTGACGCTGCTGCTGGGGCTGC
TGCTCCCTCCTGCCGCC

CCTTCTGGCTCCTCAATGTGCTCTTCCCCCGCACACCACGCCCAAGGCTGAG
CTCAGTAACCACACACG

GCCCGTCATCCTCGTGCCCGGCTGCCTGGGGAATCAGCTAGAAGCCAAGCTG
GACAAACCAGATGTGGTG

AACTGGATGTGCTACCGCAAGACAGAGGACTTCTTACCATCTGGCTGGATC
TCAACATGTTCCCTACCCC

TTGGGGTAGACTGCTGGATCGATAACACCAGGGTTGTCTACAACCGGAGCTC
TGGGCTCGTGTCCAACGC

CCCTGGTGTCCAGATCCGCGTCCCTGGCTTTGGCAAGACCTACTCTGTGGAGT
ACCTGGACAGCAGCAAG

CTGGCAGGGTACCTGCACACACTGGTGCAGAACCTGGTCAACAATGGCTACG
TGCGGGACGAGACTGTGC

GCGCCGCCCCCTATGACTGGCGGCTGGAGCCCCGGCCAGCAGGAGGAGTACTA
CCGCAAGCTCGCAGGGCT

GGTGGAGGAGATGCACGCTGCCTATGGGAAGCCTGTCTTCCCTCATTGGCCAC
AGCCTCGGCTGTCTACAC

TTGCTCTATTTCTGCTGCGCCAGCCCCAGGCCTGGAAGGACCGCTTTATTGA
TGGCTTCATCTCTCTTG

GGGCTCCCTGGGGTGGCTCCATCAAGCCCATGCTGGTCTTGGCCTCAGGTGA
CAACCAGGGCATCCCCAT

CATGTCCAGCATCAAGCTGAAAGAGGAGCAGCGCATAACCACCACCTCCCC
TGGATGTTTCCCTCTCGC

ATGGCGTGGCCTGAGGACCACGTGTTCAATTTCCACACCCAGCTTCAACTACAC
AGGCCGTGACTTCCAAC

GCTTCTTTGCAGACCTGCACTTTGAGGAAGGCTGGTACATGTGGCTGCAGTCA
CGTGACCTCCTGGCAGG

ACTCCCAGCACCTGGTGTGGAAGTATACTGTCTTTACGGCGTGGGCCTGCCCA
CGCCCCGCACCTACATC

TACGACCACGGCTTCCCCTACACGGACCCTGTGGGTGTGCTCTATGAGGATG
GTGATGACACGGTGGCGA

CCCGCAGCACCGAGCTCTGTGGCCTGTGGCAGGGCCGCCAGCCACAGCCTGT
GCACCTGCTGCCCTGCA

CGGGATACAGCATCTCAACATGGTCTTCAGCAACCTGACCCTGGAGCACATC
AATGCCATCCTGCTGGGT

GCCTACCGCCAGGGTCCCCCTGCATCCCCGACTGCCAGCCCAGAGCCCCCGC
CTCCTGAATAA (SEQ ID NO: 3).

Клонирование и секвенирование кДНК LCAT человека приведено в J. McLean et al., 1986, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA*, 83:2335-2339; полная последовательность гена, кодирующего LCAT человека, приведена в J. McLean et al., 1986, *Nucl. Acids Res.*, 14:9397-9406.

MEDI6012 (ранее называемый ACP501) представляет собой выделенный и очищенный рекомбинантный фермент LCAT человека (rhLCAT). MEDI6012 (rhLCAT) представляет собой гликозилированный одноцепочечный белок массой примерно 60 килодальтон, состоящий из 416 аминокислот, который получают в культуре клеток яичника китайского хомячка (CHO) и выделяют и очищают из нее. В одном варианте осуществления MEDI6012 используют в способах лечения с целью снижения риска возникновения ишемических событий в качестве дополнения к стандартной терапии пациентов с острым коронарным синдромом (ACS) и с целью снижения риска смерти по причине сердечно-сосудистого заболевания и госпитализации по причине сердечной недостаточности (HF) у пациентов с высоким риском инфаркта миокарда. MEDI6012 и ACP501 имеют одинаковую аминокислотную последовательность и поэтому считаются одним и тем же молекулярным объектом. MEDI6012 получают с обеспечением большей ферментативной активности из расчета на мг белка и повышенной чистотой продукта и технологической чистотой MEDI6012 по сравнению с прежним ACP501.

Используемый в данном документе термин "биомаркер" или "маркер" обычно относится к белку, молекуле нуклеиновой кислоты, клиническому показателю или другому аналиту, связанному с заболеванием. В одном варианте осуществления маркер

дифференциально присутствует в биологическом образце, полученном от субъекта, у которого имеется заболевание, например, заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание или заболевание коронарных артерий, по сравнению с уровнем, присутствующим в контрольном образце или эталоне. В одном варианте осуществления маркер представляет собой фармакодинамический (PD) маркер, который оценивают у субъекта, лечение которого проводили с помощью лекарственного средства, например MEDI6012, например, путем измерения или количественного определения его уровня в образце (например, в крови, плазме или сыворотке крови), полученном от субъекта, по сравнению с контролем, таким как уровень того же PD-маркера в образце от субъекта, которого лечили с помощью плацебо. PD-биомаркеры представляют собой маркеры, мишени или детерминанты, которые можно количественно и/или качественно измерить, чтобы определить, оказывает ли определенное средство, например, лекарственное средство, соединение или лекарственный препарат один или несколько фармакологических или физиологических эффектов. PD-биомаркеры являются индикаторами прямого или непрямого воздействия (активности) лекарственного средства на мишень в организме и могут быть полезны в оценке ассоциации или связи между дозой и/или схемой введения лекарственного средства, целевым эффектом и биологическим ответом.

Заболевание сердца относится к любому типу нарушений, которые поражают сердце, в том числе ткань и клетки (называемые кардиомиоцитами) сердечной мышцы. Заболевание сердца охватывает несколько нарушений или состояний, включающих инфаркт миокарда (известный как сердечный приступ или тромбоз коронарных артерий), при котором кровоток прерывается, что приводит к нехватке кислорода, которая повреждает или разрушает часть сердечной мышцы. Заболевание коронарных артерий включает заболевание или повреждение коронарных артерий, которые снабжают сердце питательными веществами, кислородом и кровью, что как, правило, является результатом отложения и разрастания бляшки (содержащей холестерин), которая сужает просвет артерий и уменьшает приток крови к сердцу/сердечной мышце.

Сердечно-сосудистые заболевания (CVD) представляют собой группу заболеваний как сердца, так и кровеносных сосудов, которые включают ишемическую болезнь сердца (заболевание кровеносных сосудов, питающих сердечную мышцу); цереброваскулярное заболевание (заболевание кровеносных сосудов, питающих мозг); заболевание периферических артерий (заболевание кровеносных сосудов, питающих руки и ноги);

ревматическое поражение сердца (повреждение сердечной мышцы и клапанов сердца по причине ревматической лихорадки, вызванной стрептококковыми бактериями); врожденный порок сердца (пороки развития сердца, существующие на момент рождения); тромбоз глубоких вен и тромбоэмболию легочной артерии (тромбы в венах ног, которые могут смещаться и поступать в сердце и легкие). Сердечные приступы и инсульты представляют собой острые события с хроническими последствиями/осложнениями, которые в основном вызваны закупоркой, препятствующей поступлению крови в сердце или головной мозг. Наиболее распространенной причиной этого является накопление жировых отложений на внутренних стенках кровеносных сосудов, которые снабжают кровью сердце или мозг. Инсульт также может быть вызван кровотечением из кровеносного сосуда в головном мозге или кровяными сгустками. Причиной сердечных приступов и инсультов обычно является наличие комбинации факторов риска, таких как курение табака, неправильное питание и ожирение, отсутствие физической активности и злоупотребление алкоголем, гипертензия, диабет, гиперлипидемия и генетическая предрасположенность.

"HDL" является аббревиатурой для "липопротеина высокой плотности". Восстановленный HDL (гHDL) относится к комплексу аполипопротеина A1 (apoA1), фосфолипида (например, лецитина) и сложного эфира холестерина (CE) или к комплексу apoA1, фосфолипида (например, лецитина), холестерина и сложного эфира холестерина (CE). HDL в комплексе с apoA1, фосфолипидом и CE также называют частицей HDL. Фосфолипиды, которые можно использовать для получения гHDL, включают фосфатидилхолин, сфингомиелин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозитол, фосфатидилглицерин, кардиолипин или их смеси. Нативный HDL выделяют из плазмы или сыворотки крови и он относится к частицам, которые содержат HDL, белки (такие как apoA1), холестерин и сложный эфир холестерина. "HDL-C" относится к HDL, который может содержать как этерифицированный, так и неэтерифицированный холестерин ("C" представляет собой общий холестерин, включающий как холестерин (C), так и сложный эфир холестерина (CE)). "HDL-CE" относится к компоненту HDL в виде сложного эфира холестерина. ApoA1 представляет собой основной белок, ассоциированный с частицами HDL, и играет роль в обратном транспорте холестерина. Количество белков apoA1 на одну частицу HDL варьируется, и количество белков apoA1 и количество холестерина, содержащегося в частицах HDL, также варьируется.

Используемые в данном документе термины "определение", "оценка", "анализ", "измерение", и "выявление", и "идентификация" относятся как к количественным, так и к качественным определениям, и собственно сам термин "определение" используется взаимозаменяемо в данном документе с терминами "анализ", "измерение" и им подобными. Когда подразумевается количественное определение, используется фраза "определение количества" аналита, вещества, белка и т. п. Когда подразумевается качественное и/или количественное определение, используется фраза "определение уровня" аналита или "выявление" аналита.

Под "заболеванием" подразумевается любое состояние или нарушение, которое повреждает, препятствует или нарушает нормальную функцию клетки, ткани или органа. В частности, сердечное заболевание также называется заболеванием сердца. Заболевания сердца и коронарных или периферических артерий и ассоциированные с ними заболевания, указанные в данном документе, включают, например, острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, нестабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS), сердечную недостаточность (HF), застойную HF, HF с госпитализацией, сердечную недостаточность со сниженной фракцией выброса (EF), сердечную недостаточность с сохраненной EF, инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI), инфаркт миокарда без подъема сегмента ST (non-STEMI) или заболевание, патологию или состояние, связанные или ассоциированные с сердцем или заболеванием сердца, с наследственной предрасположенностью или приобретенные, такие как инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, ишемическая кардиомиопатия, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы. Такие заболевания, состояния и/или их симптомы могут быть острыми или хроническими у субъекта и не ограничиваются ими.

Термины "выделенный", "очищенный" или "биологически чистый" относятся к материалу, который в той или иной степени свободен от компонентов, которые обычно сопровождают его в том виде, в котором он присутствует в своем естественном состоянии. "Выделить" означает степень отделения от исходного источника или окружения. "Очистить" означает степень отделения, которая выше, чем выделение.

"Очищенный" или "биологически чистый" белок в достаточной степени свободен от других материалов, поэтому любые примеси не оказывают существенного влияния на биологические свойства белка и не вызывают других нежелательных последствий. То есть нуклеиновая кислота или пептид являются очищенными, как это используется в данном документе, если они по сути не содержат клеточного материала, вирусного материала или культуральной среды, когда их получают с помощью методик рекомбинантной ДНК, или химических предшественников, или других химических веществ, когда их химически синтезируют. Чистоту и гомогенность обычно определяют с использованием методик аналитической химии, например, электрофореза в полиакриламидном геле, высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC), масс-спектрометрического анализа и т. д. Термин "очищенный" может означать, что нуклеиновая кислота или белок дают по сути одну полосу в электрофоретическом геле. Для белка, который может быть подвергнут модификациям, например фосфорилированию или гликозилированию, разные модификации могут приводить к получению разных выделенных белков, которые могут быть очищены по отдельности.

Под "выделенным полинуклеотидом" подразумевается нуклеиновая кислота (например, ДНК), которая не содержит генов в природном геноме организма, из которого получена молекула нуклеиновой кислоты, которые фланкируют ген. Таким образом, термин включает, например рекомбинантную ДНК, которая встроена в вектор; в автономно реплицирующуюся плазмиду или вирус; или в геномную ДНК прокариота или эукариота; или которая существует в виде отдельной молекулы (например, кДНК, или фрагмента генома, или фрагмента кДНК, полученных посредством ПЦР или расщепления рестрикционной эндонуклеазой) независимо от других последовательностей. Кроме того, данный термин включает молекулу РНК, которая транскрибируется с молекулы ДНК, а также рекомбинантную ДНК, которая является частью гибридного гена, кодирующего одну или несколько дополнительных полипептидных последовательностей.

Под "выделенным полипептидом" подразумевается полипептид по настоящему изобретению, такой как выделенный LCAT или рекомбинантный фермент LCAT человека, который был отделен от компонентов, которые сопровождают его в естественных условиях, или от компонентов, которые присутствуют в процессе выделения или очистки. Как правило, полипептид называют выделенным, если он на по меньшей мере 60% по весу свободен от белков и встречающихся в естественных условиях органических молекул, с которыми он связан в естественной среде. Предпочтительно данный препарат

составляет по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 90% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% по весу полипептида по настоящему изобретению. Выделенный полипептид по настоящему изобретению может быть получен, например, путем экстракции из природного источника путем экспрессии рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующей такой полипептид, или путем химического синтеза белка. Чистота может быть измерена с помощью любого подходящего способа, например, с помощью колоночной хроматографии, электрофореза в полиакриламидном геле или HPLC-анализа.

Термин "доза" относится к отмеренному количеству, объему или концентрации терапевтического средства, такого как лекарственное средство, лекарственный препарат, соединение, например, к небольшой молекуле или биологическому веществу, которые вводят (без ограничения путей введения) субъекту или пациенту, нуждающемуся в данном средстве, например, с целью лечения или получения терапевтического эффекта.

Используемый в данном документе термин "доза или схема введения доз" относится к дозе или величине дозы (LCAT, например rhLCAT или MEDI6012), вводимым субъекту с определенной частотой введения доз (количество введений лекарственного средства) в течение указанного периода лечения (продолжительности лечения), например, в течение дней, недель, месяцев, лет и т. д.

Используемый в данном документе термин "нагрузочная доза" относится к сравнительно большому количеству или концентрации (например, болюсной дозе) лекарственного средства, например rhLCAT (MEDI6012), вводимым в начале курса лечения с целью обеспечения начального эффекта, воздействия или влияния лекарственного средства в отношении субъекта, в частности лекарственного средства, которое медленно выводится из организма (с длительным системным периодом полувыведения), перед введением более низкой или поддерживающей дозы лекарственного средства, которая поддерживает количество или концентрацию лекарственного средства в организме на соответствующем терапевтическом уровне. Как правило, обеспечение нагрузочной дозой сокращает время, необходимое для достижения терапевтического уровня лекарственного средства в организме. Более конкретно, в описанных в данном документе способах, в которых LCAT (например, rhLCAT или MEDI6012) вводят в описанных дозах, нагрузочная доза сокращает время, в течение которого достигается желаемый PD-эффект, такой как, например, повышение уровней или количества HDL-C и/или apoA1. Расчет нагрузочной дозы обычно включает четыре

переменные, а именно, C_p – желаемую пиковую концентрацию лекарственного средства; V_d – объем распределения лекарственного средства в организме; F – биодоступность лекарственного средства; и S – долю лекарственного средства (или соли лекарственного средства), которая активна в организме. Нагрузочная доза может быть рассчитана следующим образом:

$$\frac{C_p V_d}{FS}$$

В случае лекарственного средства, вводимого внутривенно, биодоступность F будет равна 1, поскольку лекарственное средство вводится непосредственно в кровоток.

"Поддерживающая доза" относится к дозе лекарственного средства или препарата, такого как выделенный и очищенный LCAT (например, rhLCAT или MEDI6012, описанные в данном документе), которая поддерживает количество или концентрацию лекарственного средства в организме на соответствующем терапевтическом уровне. Поддерживающую дозу лекарственного средства или лекарственного препарата часто вводят с предварительно заданными моментами времени и/или с повторяющимися предварительно заданными временными интервалами (например, еженедельно, ежемесячно и т. п.) после введения начальной дозы (например, нагрузочной дозы) или предыдущей дозы лекарственного средства или лекарственного препарата. Поддерживающая доза лекарственного средства или лекарственного препарата обычно ниже или значительно ниже нагрузочной дозы. Поддерживающая доза лекарственного средства или лекарственного препарата может вводиться субъекту в течение продолжительного периода времени после начальной или нагрузочной дозы или предыдущей дозы.

Обратный транспорт холестерина (RCT) представляет собой многостадийный процесс, приводящий к конечному перемещению холестерина из периферических тканей обратно в печень через плазменный компартмент с целью повторного использования или экскреции с желчью. Отток холестерина из клеток опосредован липопротеинами высокой плотности (HDL), действующими в сочетании с LCAT. Основными стадиями в пути RCT являются отток свободного холестерина из клеток и его связывание с помощью пре-бета-HDL, этерификация HDL-связанного холестерина с помощью лецитин-холестерин-ацилтрансферазы (LCAT), опосредованный белком-транспортером сложных эфиров холестерина (CEPT) обмен сложных эфиров холестерина и триглицеридов между HDL и частицами, содержащими apoB, и опосредованный печеночной липазой (HL) захват

холестерина и триглицеридов печени. Таким образом, сложные эфиры холестерина, накапливающиеся в HDL, могут далее использоваться в различных путях, таких как захват в печени HDL-содержащих аполиipoproteинов (захват частиц) рецепторами липопротеинов низкой плотности (LDL), избирательный захват сложных эфиров холестерина HDL в печени или других тканях с вовлечением фагоцитарного рецептора B1 (SRB1) или перенос на богатые триглицеридами липопротеины как результат активности белка-транспортера сложных эфиров холестерина с последующим захватом богатых триглицеридами остатков липопротеинов в печени.

Под "эталоном" или "контролем" подразумевается стандарт сравнения, такой как плацебо.

Под "реагирующий" в контексте терапии подразумевается восприимчивый к лечению.

Под "биологическим образцом" или "образцом" подразумевается любая жидкость, клетка или ткань, полученные от субъекта. В некоторых вариантах осуществления биологический образец представляет собой кровь, сыворотку крови, плазму крови, спинномозговую жидкость, бронхоальвеолярный лаваж, мокроту, слезы, слюну, мочу, сперму, фекалии и т. д. Образцы клеток или тканей могут быть дополнительно обработаны в подходящем буфере для получения гомогената или суспензии, в которой содержатся внутриклеточные компоненты клеток и ткани. В некоторых вариантах осуществления образец крови, плазмы крови или сыворотки крови используется для выявления и количественного определения биомаркера и маркера (например, PD-маркера).

Под "субъектом" подразумевается млекопитающее, включая без ограничения человека, такого как пациент-человек, примата, не являющегося человеком, или млекопитающее, не являющееся человеком, такое как животное, относящееся к бычьим, лошадиным, собачьим, овечьим или кошачьим. В одном варианте осуществления субъект является человеком. В одном варианте осуществления субъект является пациентом-человеком с риском возникновения или с патологией или заболеванием сердца или сердечно-сосудистым заболеванием или синдромом и/или их симптомами и которого подвергают лечению от данных событий. В одном варианте осуществления у субъекта с патологией сердца может быть атеросклероз или заболевание коронарных артерий.

Представленные в данном документе диапазоны считаются сокращенными для всех значений в пределах диапазона, включая первое и последнее установленные

значения. Например, считается, что диапазон от 1 до 50 включает любое число, комбинацию чисел или поддиапазон из группы, состоящей из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, или 50.

"Фармацевтическая композиция" или "состав" относится к композиции (физиологически приемлемой композиции), подходящей для фармацевтического применения у такого субъекта, как животное или млекопитающее, в том числе у человека. Фармацевтическая композиция содержит терапевтически или профилактически эффективное количество MEDI6012 и фармацевтически приемлемые вспомогательное вещество, носитель, среду-носитель или разбавитель. В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция охватывает композицию, содержащую активный (активные) ингредиент (ингредиенты) (MEDI6012 или rhLCAT) и инертный (инертные) ингредиент (ингредиенты), которые составляют носитель, а также любой продукт, который образуется, прямо или опосредованной, в результате объединения, образования комплекса или агрегации двух или более ингредиентов, или в результате диссоциации одного или нескольких ингредиентов, или в результате других типов реакций или взаимодействий одного или нескольких ингредиентов. В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция необязательно включает другое биологически активное средство, соединение, лекарственное средство или лекарственный препарат. Соответственно, фармацевтические композиции по настоящему изобретению охватывают любую композицию, которая получена путем смешивания rhLCAT или MEDI6012 и фармацевтически приемлемых вспомогательного средства, носителя, среды-носителя или разбавителя.

"Фармацевтически приемлемый носитель" относится к любому из стандартных фармацевтических носителей, буферов и т. п., таких как фосфатно-буферный солевой раствор, необязательно другое биологически активное средство, водный (например, 5%) раствор декстрозы и эмульсии (например, эмульсии типа масло/вода или вода/масло). Неограничивающие примеры вспомогательных средств включают вспомогательные средства, связующие средства, наполнители, разбавители, разрыхлители, эмульгаторы, смачивающие средства, смазывающие средства, средства, способствующие скольжению, подсластители, ароматизаторы и красители. Подходящие фармацевтические носители, вспомогательные средства, среды-носители и разбавители можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th Ed. (Mack Publishing Co., Easton, 1995 (или в обновленных

изданиях этой ссылки)). Фармацевтический носитель, подходящий для включения в композицию или состав, обычно зависит от предполагаемого способа введения активного средства, например MEDI6012. Иллюстративные пути введения включают энтеральный (например, пероральный) или парентеральный (например, подкожное, внутримышечное, внутривенное или интраперитонеальное введение; внутривенную инфузию или местное, трансдермальное или трансмукозальное введение).

"Фармацевтически приемлемая соль" относится к соли, которая может быть составлена в соединение для фармацевтического применения, включая без ограничения соли металлов (например натрия, калия, магния, кальция и т. д.) и соли аммиака или органического фосфата.

"Фармацевтически приемлемый", "физиологически приемлемый" или "фармакологически приемлемый" относятся к материалу, который не является биологически, физиологически или в ином контексте нежелательным, т. е. материал можно вводить индивидууму, не вызывая каких-либо нежелательных биологических эффектов или без вредного взаимодействия с любым из компонентов композиции, в которой он содержится, или с любым из компонентов, присутствующим на теле или в организме индивидуума.

"Физиологические условия" относятся к условиям в организме животного или млекопитающего, такого как человек. Физиологические условия включают без ограничения температуру тела и водную среду с физиологической ионной силой, рН и ферментами. Физиологические условия также охватывают условия в организме конкретного субъекта, которые отличаются от "нормальных" условий, наблюдаемых у большинства субъектов, таких как нормальная температура тела человека (примерно 37°C) или физиологический показатель рН крови человека (примерно 7,4).

Используемые в данном документе термины "лечить", "проведение лечения", "лечение" и т. п. относятся к снижению, сокращению, смягчению, ослаблению, подавлению или облегчению нарушения и/или связанных с ним симптомов. Будет понятно, хотя это и не исключается, что лечение нарушения или состояния не требует полного устранения нарушения, состояния или симптомов, ассоциированных с ним. «Лечение» может относиться к профилактическому лечению, или терапевтическому лечению, или диагностическому лечению. В определенных вариантах осуществления "лечение" относится к введению соединения или композиции субъекту в терапевтических, профилактических или диагностических целях.

В соответствии с описанными способами проведение лечения или лечение включает введение активного ингредиента (выделенного и очищенного LCAT, rhLCAT или MEDI6012), описанного в данном документе. В одном варианте осуществления выделенный и очищенный LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят внутривенно нуждающемуся в этом субъекту. Специалисту в данной области техники будет понятно, что внутривенное введение обычно относится к обеспечению или доставке активного ингредиента, терапевтического средства, вещества, лекарственного препарата или лекарственного средства, такого как выделенный и очищенный LCAT, rhLCAT или MEDI6012 и т. п., в вену или кровеносный сосуд субъекта с целью доставки активного ингредиента в системный кровоток субъекта. Внутривенное введение может включать внутривенную инъекцию или внутривенную инфузию в вену или сосуд, например, с помощью шприца и иглы или катетера. Внутривенная инъекция или инфузия могут включать использование пластиковых трубок и инфузионного пакета (например, инфузионной системы), вследствие чего активный ингредиент доставляется через трубки в инфузионный пакет, а затем из инфузионного пакета в субъекта, например, через катетер и/или порт-систему, размещенные в теле субъекта, со скоростью введения, которая обычно на практике определяется врачом. Внутривенные инъекция или инфузия могут осуществляться с использованием насоса или с помощью капельницы. В качестве примера и без ограничения введение активного ингредиента или лекарственного препарата, такого как выделенный и очищенный LCAT, rhLCAT или MEDI6012, путем внутривенной инфузии субъекту может осуществляться в течение некоторого периода времени, такого как, например, от приблизительно 30 минут до 1 часа или больше или в течение приблизительно 1 часа.

В одном варианте осуществления внутривенное введение может включать в/в струйное введение, под которым следует понимать доставку (например, путем инъекции через шприц) активного ингредиента или лекарственного препарата, такого как выделенный и очищенный LCAT, rhLCAT или MEDI6012, в вену или кровеносный сосуд субъекта. В/в струйное введение может быть обеспечено через капельницу, иглу или катетер. В конкретном варианте осуществления в/в струйное введение относится к внутривенной инъекции или инфузии выделенного и очищенного LCAT, rhLCAT или MEDI6012 (лекарственного средства или лекарственного препарата), которые обычно вручную доставляются субъекту через шприц в течение относительно короткого периода времени, например и без ограничения в течение периода времени, составляющего от

приблизительно 30 секунд до 3 минут или равного ему, или периода времени, составляющего приблизительно 1–10 минут или равного ему, или периода времени, составляющего приблизительно 1–5 минут или равного ему, или периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты или равного ему, или периода времени, составляющего приблизительно 1–2 минуты или равного ему, или периода времени, составляющего приблизительно 1 минуту или равного ему. В/в струйное введение субъекту обычно осуществляют с помощью шприца. В/в струйное введение можно осуществлять в вену или сосуд субъекта посредством введения через шприц в короткую или длинную в/в магистраль. В конкретном варианте осуществления выделенный и очищенный LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту путем в/в струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно или равного 1–3 минуты.

«Профилактическое лечение» (такое как превентивное или протективное лечение) представляет собой лечение, назначаемое субъекту, у которого не проявляются признаки заболевания, или у которого проявляются только ранние признаки заболевания, или который подвержен риску возникновения заболевания, с целью уменьшения, снижения, ослабления или устранения риска развития заболевания, патологии или состояния или более серьезной или тяжелой формы заболевания, или патологии, или состояния. Соединения rhLCAT или MEDI6012 или их композиции по настоящему изобретению могут быть назначены в качестве профилактического или протективного лечения с целью уменьшения вероятности развития у пациента заболевания, патологии или состояния или для сведения к минимуму тяжести заболевания, патологии или состояния, если они развиваются у субъекта.

"Терапевтическое" лечение представляет собой лечение, назначаемое субъекту, у которого проявляются признаки или симптомы заболевания или патологии, с целью уменьшения, снижения, ослабления или устранения признаков или симптомов. Признаки или симптомы заболевания или патологии могут быть без ограничения биохимическими, поведенческими, клеточными, фенотипическими, генотипическими, гистологическими, функциональными, физическими, субъективными или объективными. Рекомбинантный LCAT человека (rhLCAT) или MEDI6012 по настоящему изобретению также может быть назначен в качестве терапевтического лечения или для диагностики.

Используемое в данном документе терапевтическое средство, которое "предотвращает" нарушение или состояние, относится к соединению или материалу, которое в статистическом образце снижает частоту возникновения нарушения или

состояния в образце от пациента, который получал лечение, по сравнению с контрольным или эталонным образцом от пациента, который не получал лечение, или задерживает проявление или снижает тяжесть одного или нескольких симптомов нарушения или состояния по сравнению с эталонным или контрольным образцом от пациента, который не получали лечение. В одном варианте осуществления MEDI6012 является превентивным терапевтическим средством в способах, описанных в данном документе.

Термин "эффективное количество" относится к дозировке, достаточной для получения требуемого результата (например, уменьшения, ослабления, устранения или облегчения тяжести симптомов), связанного с состоянием здоровья, патологией или заболеванием у субъекта, или для диагностической цели. Требуемый результат может включать субъективное или объективное улучшение у субъекта, которому вводят дозу или количество. "Терапевтически эффективное количество" относится к такому количеству средства, которое эффективно для достижения требуемого полезного эффекта по отношению к здоровью. Понятно, что конкретный уровень дозы и частота введения доз для любого конкретного пациента могут зависеть от множества факторов, включая активность конкретного используемого соединения; биодоступность, метаболическую стабильность, скорость выведения и продолжительность действия этого соединения; путь и время введения соединения; возраст, вес тела, общее состояние здоровья, пол и рацион пациента и тяжесть конкретного состояния пациента.

Термины "белок", "пептид" и "полипептид" относятся к цепи аминокислот независимо от длины или посттрансляционной модификации (например, гликозилирования или фосфорилирования). Таким образом, термины могут использоваться в данном документе взаимозаменяемо для обозначения полимера из аминокислотных остатков. Термины также применимы к аминокислотным полимерам, в которых один или несколько аминокислотных остатков представляют собой искусственный химический миметик соответствующей встречающейся в природе аминокислоты. Таким образом, термин "полипептид" включает полноразмерные встречающиеся в природе белки, а также полипептиды, полученные рекомбинантным или синтетическим путем, которые соответствуют полноразмерным встречающимся в природе белкам, или конкретным доменам, или частям встречающегося в природе белка. Термин также охватывает зрелые белки, которые содержат аминоконцевой метионин, добавленный для облегчения экспрессии в прокариотических клетках. Полипептиды могут быть синтезированы химически или синтезированы с помощью методик

рекомбинантной ДНК; или они могут быть очищены от тканей, в которых они экспрессируются естественным путем, в соответствии со стандартными биохимическими методами очистки. "Функциональные полипептиды" обладают одной или несколькими биологическими функциями или активностями указанного белка или полипептида, например, ферментативного белка LCAT. Функциональные полипептиды могут содержать первичную аминокислотную последовательность, которая была модифицирована по сравнению с последовательностью, которая считается стандартной последовательностью белка LCAT человека. Предпочтительно такими модификациями являются консервативные аминокислотные замены, которые не изменяют или по сути не изменяют нормальную функцию или активность белка. Полипептидный фрагмент, часть или сегмент относится к отрезку из аминокислотных остатков, длина которого составляет по меньшей мере приблизительно 6 смежных аминокислот из конкретной последовательности, более типично по меньшей мере приблизительно 10–12 смежных аминокислот.

Молекулы нуклеиновой кислоты (полинуклеотиды), которые кодируют полипептиды, такие как LCAT по настоящему изобретению, включают любую молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует раскрытый полипептид, например LCAT человека или его фрагмент. Такие молекулы нуклеиновой кислоты необязательно должны быть на 100% идентичны эндогенной последовательности нуклеиновой кислоты, но обычно будут демонстрировать значительную идентичность. Полинуклеотиды, характеризующиеся "значительной идентичностью" с эндогенной последовательностью, как правило, способны к гибридизации с по меньшей мере одной нитью двухнитевой молекулы нуклеиновой кислоты. Полинуклеотиды, характеризующиеся "значительной идентичностью" с эндогенной последовательностью, как правило, способны к гибридизации с по меньшей мере одной нитью двухнитевой молекулы нуклеиновой кислоты. Под "гибридизацией" подразумевают спаривание с образованием двухнитевой молекулы между комплементарными полинуклеотидными последовательностями (например генами) или их частями в различных условиях жесткости. (См., например, Wahl, G. M. and S. L. Berger, 1987, *Methods Enzymol.*, 152:399; Kimmel, A. R., 1987, *Methods Enzymol.*, 152:507).

Была выделена геномная ДНК, кодирующая LCAT человека из 416 аминокислот. (См., например, патент США № 6635614). Нуклеотидная и выведенная аминокислотная последовательности LCAT от мыши описаны в CH. Warden et al., 1989, *J. Biol Chem.*,

264:21573-81. LCAT млекопитающего (в частности, LCAT человека) или его ферментативно активный аллельный вариант могут быть применимы в описанных способах, как и другие варианты, включая фрагменты фермента, которые обладают ферментативной активностью LCAT. "Аллельный вариант" в контексте полинуклеотида или гена представляет собой альтернативную форму (аллель) гена, который существует в более чем одной форме в популяции. На уровне полипептида "аллельные варианты" обычно отличаются друг от друга только одной или не более чем несколькими аминокислотными заменами. "Видовой вариант" полинуклеотида или полипептида представляет собой вариант, который встречается в природе среди различных видов организма.

В качестве неограничивающего примера жесткая концентрация соли обычно составляет менее приблизительно 750 мМ NaCl и 75 мМ тринатрийцитрата, предпочтительно менее приблизительно 500 мМ NaCl и 50 мМ тринатрийцитрата и более предпочтительно менее приблизительно 250 мМ NaCl и 25 мМ тринатрийцитрата. Гибридизация с низкой жесткостью может быть достигнута в отсутствие органического растворителя, например формамида, тогда как гибридизация с высокой жесткостью может быть достигнута в присутствии по меньшей мере приблизительно 35% формамида и более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 50% формамида. Жесткие температурные условия обычно включают температуры, составляющие по меньшей мере приблизительно 30°C, более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 37°C и наиболее предпочтительно по меньшей мере приблизительно 42°C. Различные дополнительные параметры, такие как время гибридизации, концентрация детергента, например натрия додецилсульфата (SDS), и включение или исключение ДНК-носителя, хорошо известны специалистам в данной области техники. Различные уровни жесткости достигаются путем объединения данных различных условий по мере необходимости. В конкретном варианте осуществления гибридизация происходит при 30°C в 750 мМ NaCl, 75 мМ тринатрийцитрате и 1% SDS. В другом конкретном варианте осуществления гибридизация происходит при 37°C в 500 мМ NaCl, 50 мМ тринатрийцитрате, 1% SDS, 35% формамиде и 100 мкг/мл денатурированной ДНК из молок лососевых (ssDNA). В другом конкретном варианте осуществления гибридизация осуществляется при 42°C в 250 мМ NaCl, 25 мМ тринатрийцитрате, 1% SDS, 50% формамида и 200 мкг/мл ssDNA. Применимые варианты данных условий будут очевидны специалистам в данной области техники.

Для большинства применений стадии промывки после гибридизации также будут различаться по жесткости. Условия жесткости промывки могут быть определены концентрацией соли и температурой. Как указано выше, жесткость промывки может быть повышена путем уменьшения концентрации соли или путем повышения температуры. Например, жесткая концентрация соли для стадий промывки будет составлять менее приблизительно 30 мМ NaCl и 3 мМ тринатрийцитрата и, в частности, менее приблизительно 15 мМ NaCl и 1,5 мМ тринатрийцитрата. Жесткие температурные условия для стадий промывки обычно включают температуру, составляющую по меньшей мере приблизительно 25°C, или по меньшей мере приблизительно 42°C, или по меньшей мере приблизительно 68°C. В конкретном варианте осуществления стадии промывки будут осуществляться при 25°C в 30 мМ NaCl, 3 мМ тринатрийцитрата и 0,1% SDS. В другом конкретном варианте осуществления стадии промывки будут осуществляться при 42°C в 15 мМ NaCl, 1,5 мМ тринатрийцитрате и 0,1% SDS. В другом конкретном варианте осуществления стадии промывки будут осуществляться при 68°C в 15 мМ NaCl, 1,5 мМ тринатрийцитрате и 0,1% SDS. Дополнительные варианты данных условий будут очевидны специалистам в данной области техники. Методики гибридизации хорошо известны специалистам в данной области техники и описаны, например, в Benton and Davis (*Science*, 196:180, 1977); Grunstein and Hogness (*Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 72:3961, 1975); Ausubel et al. (*Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley Interscience, New York, 2001); Berger and Kimmel (*Guide to Molecular Cloning Techniques*, 1987, Academic Press, New York) и Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

Под "по сути идентичной" подразумевается молекула полипептида или нуклеиновой кислоты, характеризующаяся по меньшей мере 50% идентичностью с эталонной аминокислотной последовательности или последовательностью нуклеиновой кислоты. Такая последовательность может быть на по меньшей мере 60%, или на по меньшей мере 80 или 85%, или на по меньшей мере 90%, 95% или даже 99% идентична на уровне аминокислот или нуклеиновой кислоты последовательности, используемой для сравнения.

Идентичность последовательностей обычно измеряют с использованием программного обеспечения для анализа последовательностей (например пакета программного обеспечения для анализа последовательностей от Genetics Computer Group, Центр биотехнологии Университета Висконсина, 1710 University Avenue, Мэдисон,

Висконсин, 53705, США, или программ BLAST, BESTFIT, GAP или PILEUP/PRETTYBOX). Такое программное обеспечение сопоставляет идентичные или сходные последовательности, присваивая степени гомологии различным заменам, делециям и/или другим модификациям. Консервативные замены обычно включают замены в следующих группах аминокислот: глицин, аланин; валин, изолейцин, лейцин; аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, аспарагин, глутамин; серин, треонин; лизин, аргинин; и фенилаланин, тирозин. В иллюстративном подходе к определению степени идентичности может использоваться программа BLAST с показателем вероятности от e^{-3} до e^{-100} , указывающим на близкородственную последовательность.

В данном изобретении выражения "предусматривает", "предусматривающий", "содержащий" и "имеющий" и т. п. могут иметь значение, приписанное им в патентном законодательстве США, и могут означать "включает", "включающий" и т. п.; "по сути состоящий из" или "состоит по сути из" аналогичным образом имеют значение, указанное в патентном законодательстве США, причем данные выражения являются неограничивающими, что допускает присутствие большего, чем указано, при условии, что основные или новые характеристики того, что указано не изменяются при наличии большего, чем указано, но исключают варианты осуществления из предшествующего уровня техники.

Если конкретно не указано или не очевидно из контекста, союз "или", используемый в данном документе, следует понимать как включающий. Если конкретно не указано или не очевидно из контекста, форму единственного числа и множественного числа, используемую в данном документе, следует понимать как единственное или множественное число.

Если конкретно не указано или не очевидно из контекста, используемое в данном документе выражение "приблизительно" понимают как находящийся в диапазоне приемлемых пределов в данной области техники, например, в пределах 2 стандартных отклонений от среднего значения. Выражение "приблизительно" понимают как относящийся к диапазону 5%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,1%, 0,05%, или 0,01% от указанного значения. Если иное не ясно из контекста, все числовые значения, приведенные в данном документе, модифицированы выражением "приблизительно".

Любые композиции или способы, представленные в данном документе, можно комбинировать с одними или несколькими любыми другими композициями и способами, представленными в данном документе.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На **фиг. 1** представлен схематический обзор дизайна клинического исследования фазы 2а с однократным введением в нарастающих дозах (SAD) (клиническое исследование SAD D5780C00002), описанного в примере 1 в данном документе. Когорты, включенные в исследование, представляли популяцию, у которой имелось стабильное заболевание коронарных артерий (CAD) и которая получала терапию статинами. В исследование не включали субъектов с недавним событием нестабильной стенокардии или инфаркта миокарда (МИ), инсульта, транзиторной ишемической атаки (ТИА), или микроинсульта, или сосудистым вмешательством. Исследование также исключало тех пациентов, у которых уровни HDL-C превышали 60 мг/дл; мужчин и женщин старше 75 лет; пациентов с уровнями LDL-C выше 150 мг/дл (прямое измерение с помощью стандартного лабораторного теста) и с уровнями триглицеридов (TG) выше 500 мг/дл. На **фиг. 1**, выражение "активное вещество" относится к ферменту MEDI6012 rhLCAT, вводимому субъектам в каждой когорте в указанных дозах: 24 мг, 80 мг, 240 мг и 800 мг, доставляемых путем внутривенного (в/в) введения, и 80 мг и 600 мг, доставляемых путем подкожной (п/к) инъекции. Сокращение "pbo" относится к плацебо, вводимому субъектам в исследовании.

На **фиг. 2А и 2В** показаны графики концентрации (уровней) LDL-C в сыворотке крови (прямое измерение с помощью стандартного лабораторного теста) с течением времени у субъектов, которые получали MEDI6012 в дозе 24, 80, 240 или 800 мг посредством внутривенного (в/в) введения, по сравнению с плацебо, как это определено в исследовании фазы 2а SAD, описанном в примере 1 в данном документе. На **фиг. 2А** показана концентрация LDL-C в сыворотке крови (прямое измерение с помощью стандартного лабораторного теста) с течением времени у субъектов, которым вводили однократные в/в дозы MEDI6012. На **фиг. 2В** показано изменение от исходного уровня концентрации LDL-C в сыворотке крови (прямое измерение с помощью стандартного лабораторного теста) с течением времени у субъектов, которым вводили однократные в/в дозы MEDI6012, как это описано для **фиг. 2А**.

На **фиг. 3А и 3В** показаны графики концентрации аполипопротеина В (apoB) в сыворотке крови у субъектов, которые получали MEDI6012 в дозе 24, 80, 240 или 800 мг

посредством внутривенного (в/в) введения, с течением времени по сравнению с плацебо, как это определено в исследовании фазы 2а SAD, описанном в примере 1 в данном документе. На **фиг. 3А** показана концентрация apoB в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которым вводили однократные в/в дозы MEDI6012 (в/в дозы 24, 80, 240 или 800 мг). На **фиг. 3В** показано изменение от исходного уровня концентрации apoB в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которым вводили однократные в/в дозы MEDI6012, как это описано для **фиг. 3А**.

На **фиг. 4А – 4D** показаны графики концентраций HDL-C в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которые получали MEDI6012 в дозах 80 мг или 600 мг путем подкожного (п/к) введения, по сравнению с плацебо или у субъектов, которые получали MEDI6012 в дозах 24 мг, 80 мг, 240 мг или 800 мг путем внутривенного (в/в) введения, по сравнению с плацебо, как это определено в исследовании фазы 2а SAD, описанном в примере 1 в данном документе. На **фиг. 4А** показана концентрация HDL-C в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которым вводили п/к дозы MEDI6012 (дозы 80 мг или 600 мг), по сравнению с контролем плацебо. На **фиг. 4В** показано изменение от исходного уровня концентрации HDL-C в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которым вводили п/к дозы MEDI6012 (дозы 80 мг или 600 мг), по сравнению с контролем плацебо. На **фиг. 4С** показана концентрация HDL-C в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которым вводили в/в дозы MEDI6012 (дозы 24 мг, 80 мг, 240 мг или 800 мг), по сравнению с контролем плацебо. На **фиг. 4D** показано изменение от исходного уровня концентрации HDL-C в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которым вводили в/в дозы MEDI6012 (дозы 24 мг, 80 мг, 240 мг или 800 мг), по сравнению с контролем плацебо.

На **фиг. 5А и 5В** показаны графики концентрации (уровней) LDL-C в сыворотке крови (прямое измерение с помощью стандартного лабораторного теста) с течением времени у субъектов, которые получали MEDI6012 в дозе 80 или 600 мг посредством подкожного (п/к) введения, по сравнению с плацебо, как это определено в исследовании фазы 2а SAD, описанном в примере 1 в данном документе. На **фиг. 5А** показана концентрация LDL-C в сыворотке крови (прямое измерение с помощью стандартного лабораторного теста) с течением времени у субъектов, которым вводили однократную п/к дозу MEDI6012 (п/к доза 80 или 600 мг). На **фиг. 5В** показано изменение от исходного уровня концентрации LDL-C в сыворотке крови (прямое измерение с помощью

стандартного лабораторного теста) с течением времени у субъектов, которым вводили однократную п/к дозу MEDI6012, как это описано для **фиг. 5А**.

На **фиг. 6А и 6В** показаны графики концентрации ароВ в сыворотке крови у субъектов, которые получали MEDI6012 в дозе 80 или 600 мг посредством подкожного (п/к) введения, с течением времени по сравнению с плацебо, как это определено в исследовании фазы 2а SAD, описанном в примере 1 в данном документе. На **фиг. 6А** показана концентрация ароВ в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которым вводили однократную п/к дозу MEDI6012 (п/к доза 80 мг или 600 мг). На **фиг. 6В** показано изменение от исходного уровня концентрации ароВ в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которым вводили однократную п/к дозу MEDI6012, как это описано для **фиг. 6А**.

На **фиг. 7А – 7Д** показаны графики концентраций ароА1 в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которые получали MEDI6012 в дозах 80 мг или 600 мг путем подкожного (п/к) введения, по сравнению с плацебо или у субъектов, которые получали MEDI6012 в дозе 24 мг, 80 мг, 240 мг или 800 мг путем внутривенного (в/в) введения, по сравнению с плацебо, как это определено в исследовании фазы 2а SAD, описанном в примере 1 в данном документе. На **фиг. 7А** показана концентрация ароА1 в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которым вводили п/к дозу MEDI6012 (доза 80 мг или 600 мг). На **фиг. 7В** показано изменение от исходного уровня концентрации ароА1 в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которым вводили п/к дозу MEDI6012 (дозу 80 мг или 600 мг). На **фиг. 7С** показана концентрация ароА1 в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которым вводили в/в дозы MEDI6012 (дозы 24 мг, 80 мг, 240 мг или 800 мг), по сравнению с контролем плацебо. На **фиг. 7Д** показано изменение от исходного уровня концентрации ароА1 в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которым вводили в/в дозы MEDI6012 (дозы 24 мг, 80 мг, 240 мг или 800 мг), по сравнению с контролем плацебо.

На **фиг. 8А – 8Д** представлены графики, показывающие изменение от исходного уровня концентраций HDL-С (**фиг. 8А**), HDL-СЕ (**фиг. 8В**), ароА1 (**фиг. 8С**) и СЕ (**фиг. 8Д**) с течением времени, как это измерено в образцах, полученных от субъектов из когорт 1-3, после введения MEDI6012 по сравнению с плацебо, как это описано для клинического исследования с многократным введением в нарастающих дозах (MAD) (клиническое исследование MAD D5780C00005) в примере 2 в данном документе. Дозозависимое повышение HDL-С, HDL-СЕ, ароА1 и СЕ с течением времени было выявлено у субъектов

из когорт 1–3, которые получали MEDI6012 по схеме с многократным введением доз (т. е. 40 мг, 120 мг или 300 мг MEDI6012, введенные в/в в дни 1, 8 и 15), по сравнению с плацебо в исследовании MAD. Дозозависимое повышение вышеуказанных продуктов (биомаркеров), измеренное в образцах от субъектов, согласуется с механизмом действия LCAT, понятным специалисту в данной области техники.

На **фиг. 9А и 9В** представлены график и диаграмма размаха для площади под кривой зависимости «концентрация-время» (AUC), показывающие уровни LDL-C у субъектов из когорт 1-3 после введения MEDI6012, как это описано для исследования MAD в примере 2 в данном документе. На **фиг. 9А** показано изменение концентрации LDL-C в сыворотке крови от исходного уровня (прямое измерение с помощью стандартного лабораторного теста) с течением времени в образцах, полученных от субъектов в когортах 1-3, по сравнению с плацебо (как это описано на **фиг. 8А – 8D** выше и в примере 2). На **фиг. 9В** показана $AUC_{0-96ч}$ LDL-C для субъектов из когорт 1 и 2 в исследовании MAD из примера 2. Повышение LDL-C наблюдали после первой дозы 120 мг MEDI6012 и после третьей дозы как 40 мг, так и 120 мг. Однако повышение уровня LDL-C не считалось вредным ввиду статических (или сниженных) уровней apoB, которые одновременно измерили у субъектов. (Смотри **фиг. 10А и 10В** ниже).

На **фиг. 10А и 10В** представлены график и диаграмма размаха для AUC, показывающие уровни apoB у субъектов из когорт 1-3 после введения MEDI6012, как это описано для исследования MAD в примере 2 в данном документе. На **фиг. 10А** показано изменение концентрации apoB в сыворотке крови от исходного уровня с течением времени в образцах, полученных от субъектов в когортах 1-3, по сравнению с плацебо (как это описано на **фиг. 8А – 8D** выше и в примере 2), На **фиг. 10В** показана $AUC_{0-96ч}$ apoB для субъектов из когорт 1 и 2 в исследовании MAD из примера 2. Отсутствовало повышение apoB, что указывает на то, что не имело место вредное повышение количества частиц LDL, связанное с дозами MEDI6012 и схемами введения доз.

На **фиг. 11А и 11В** представлены графики, показывающие изменение от исходного уровня концентраций общего холестерина (ТС) (**фиг. 11А**) и свободного холестерина (FC) (**фиг. 11В**) в сыворотке крови с течением времени, что измерено в образцах, полученных от субъектов в когортах 1-3, после введения доз MEDI6012 (80 мг, 120 мг или 300 мг) по сравнению с плацебо, как это описано для исследования MAD в примере 2 в данном документе.

На **фиг. 12А и 12В** представлены графики, показывающие скорректированные относительно исходного уровня уровни HDL (**фиг. 12А**) и уровни apoA1 (**фиг. 12В**) в мг/дл, прогнозируемые и ожидаемые посредством моделирующего/имитационного анализа, в образцах (сыворотке крови) у субъектов после введения дозы путем в/в струйного введения в течение 1 минуты с нагрузочной дозой MEDI6012 в указанных количествах 160 мг, 200 мг, 240 мг, 280 мг и 320 мг, как это описано в примерах 2 и 3 в данном документе. Моделирующий/имитационный анализ и оценки, упомянутые выше и в описаниях фигур ниже, проводили в основном на основе данных и результатов, полученных в результате клинических исследований с однократным введением в нарастающих дозах (SAD) и многократным введением в нарастающих дозах (MAD), как это описано в примерах 1 и 2 в данном документе.

На **фиг. 13А и 13В** представлены графики, показывающие скорректированную относительно исходного уровня концентрацию HDL (**фиг. 13А**) и концентрацию apoA1 (**фиг. 13В**) в мг/дл в течение времени, прогнозируемую и ожидаемую посредством моделирующего/имитационного анализа, у субъектов, которые получали дозу MEDI6012 посредством в/в струйного введения в течение 1 минуты по следующей схеме введения доз: 300 мг (нагрузочная доза) в день 1; 150 мг в день 3; и 100 мг (поддерживающая доза) в день 10.

На **фиг. 14А** представлен график, показывающий повышение HDL2 в качестве критериев выбора в моделирующем/имитационном анализе для доз фермента LCAT после внутривенного (в/в) или подкожного (п/к) введения MEDI6012 по сравнению с плацебо. На фигуре показаны уровни HDL2 (мг/дл) в сыворотке крови в течение времени после в/в введения MEDI6012 в количестве 24 мг, 80 мг, 240 мг или 800 мг или после п/к введения MEDI6012 в количестве 80 мг или 600 мг. HDL2 является полезным кардиопротективным подклассом HDL, который с большей готовностью принимает сфингозин-1-фосфат (S1P), который является кардиопротективным фактором. Видно, что дозы MEDI6012 в количествах, превышающих 240 мг, не приводят к дальнейшему повышению HDL2. На **фиг. 14В и фиг. 14С** показано, что HDL2 является разновидностью HDL, который несет на себе и принимает больше сфингозин-1-фосфата (S1P) по сравнению с HDL-3, как сообщают Sattler, K. et al. (2015, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 66:1470-1485).

На **фиг. 15А – 15D** представлены графики, показывающие прогнозируемую скорректированную относительно исходного уровня концентрацию HDL-C (мг/дл) с течением времени на основе результатов моделирующего/имитационного анализа с

использованием критериев выбора для нагрузочной и поддерживающей доз MEDI6012, которые приводят к уровням HDL-C в сыворотке крови >60 мг/дл (исходный уровень = 35). На **фиг. 15А** показаны прогнозируемые и ожидаемые результаты концентрации HDL-C (мг/дл) с течением времени при использовании различных нагрузочных доз (LD) MEDI6012 (LD 160 мг, 200 мг, 240 мг, 280 мг или 320 мг) и поддерживающей дозы MEDI6012 160 мг. На **фиг. 15В** показаны прогнозируемые и ожидаемые результаты концентрации HDL-C (мг/дл) с течением времени при использовании различных нагрузочных доз (LD) MEDI6012 (LD 160 мг, 200 мг, 240 мг, 280 мг или 320 мг) и поддерживающей дозы MEDI6012 100 мг. На **фиг. 15С** показаны прогнозируемые и ожидаемые результаты концентрации HDL-C (мг/дл) с течением времени при использовании различных нагрузочных доз (LD) MEDI6012 (LD 160 мг, 200 мг, 240 мг, 280 мг или 320 мг) и поддерживающей дозы MEDI6012 120 мг. На **фиг. 15D** показаны прогнозируемые и ожидаемые результаты концентрации HDL-C (мг/дл) с течением времени при использовании различных нагрузочных доз (LD) MEDI6012 (LD 160 мг, 200 мг, 240 мг, 280 мг или 320 мг) и поддерживающей дозы MEDI6012 80 мг.

На **фиг. 16А – 16D** представлены графики, показывающие прогнозируемую скорректированную относительно исходного уровня концентрацию apoA1 (мг/дл) с течением времени на основе результатов моделирующего/имитационного анализа с использованием критериев выбора для нагрузочной и поддерживающей доз MEDI6012, которые поддерживают уровни apoA1 в равновесном состоянии. На **фиг. 16А** показаны прогнозируемые и ожидаемые результаты концентрации apoA1 (мг/дл) с течением времени при использовании различных нагрузочных доз (LD) MEDI6012 (LD 160 мг, 200 мг, 240 мг, 280 мг или 320 мг) и поддерживающей дозы MEDI6012 160 мг. На **фиг. 16В** показаны прогнозируемые и ожидаемые результаты концентрации apoA1 (мг/дл) с течением времени при использовании различных нагрузочных доз (LD) MEDI6012 (LD 160 мг, 200 мг, 240 мг, 280 мг или 320 мг) и поддерживающей дозы MEDI6012 100 мг. На **фиг. 16С** показаны прогнозируемые и ожидаемые результаты концентрации apoA1 (мг/дл) с течением времени при использовании различных нагрузочных доз (LD) MEDI6012 (LD 160 мг, 200 мг, 240 мг, 280 мг или 320 мг) и поддерживающей дозы MEDI6012 120 мг. На **фиг. 16D** показаны прогнозируемые и ожидаемые результаты концентрации apoA1 (мг/дл) с течением времени при использовании различных нагрузочных доз (LD) MEDI6012 (LD 160 мг, 200 мг, 240 мг, 280 мг или 320 мг) и поддерживающей дозы MEDI6012 80 мг.

На **фиг. 17** представлен график, показывающий общее количество малых частиц LDL (LDL-P) (нмоль/л) с течением времени, что наблюдается при различных дозах MEDI6012 (вводимых в/в или п/к), которые приводят к уменьшению количества малых LDL-P. Группы введения доз MEDI6012 включали в/в введение доз в количестве 24 мг, 80 мг, 240 мг и 800 мг; и п/к введение доз в количестве 80 мг по сравнению с плацебо. Было определено, что снижение уровня малых LDL-P составляет приблизительно 40–41% при дозе MEDI6012 в количестве 80 мг (в/в), и 80% при дозе MEDI6012 в количестве 240 мг (в/в).

На **фиг. 18A – 18D** представлены графики, показывающие прогнозируемую скорректированную относительно исходного уровня концентрацию сложных эфиров холестерина (CE) (мг/дл) с течением времени на основе результатов моделирующего/имитационного анализа с использованием критериев выбора для нагрузочной и поддерживающей доз MEDI6012, которые приводят к минимальному накоплению или к отсутствию накопления CE. На **фиг. 18A** показаны прогнозируемые и ожидаемые результаты концентрации CE (мг/дл) с течением времени при использовании различных нагрузочных доз (LD) MEDI6012 (LD 160 мг, 200 мг, 240 мг, 280 мг или 320 мг) и поддерживающей дозы MEDI6012 160 мг. На **фиг. 18B** показаны прогнозируемые и ожидаемые результаты концентрации CE (мг/дл) с течением времени при использовании различных нагрузочных доз (LD) MEDI6012 (LD 160 мг, 200 мг, 240 мг, 280 мг или 320 мг) и поддерживающей дозы MEDI6012 100 мг. На **фиг. 18C** показаны прогнозируемые и ожидаемые результаты концентрации CE (мг/дл) с течением времени при использовании различных нагрузочных доз (LD) MEDI6012 (LD 160 мг, 200 мг, 240 мг, 280 мг или 320 мг) и поддерживающей дозы MEDI6012 120 мг. На **фиг. 18D** показаны прогнозируемые и ожидаемые результаты концентрации CE (мг/дл) с течением времени при использовании различных нагрузочных доз (LD) MEDI6012 (LD 160 мг, 200 мг, 240 мг, 280 мг или 320 мг) и поддерживающей дозы MEDI6012 80 мг.

На **фиг. 19A – 19D** представлены графики, показывающие прогнозируемую скорректированную относительно исходного уровня концентрацию HDL-CE (мг/дл) с течением времени на основе результатов моделирующего/имитационного анализа с использованием критериев выбора для нагрузочной и поддерживающей доз MEDI6012, которые приводят к приемлемым уровням HDL-CE в сыворотке крови после введения дозы. На **фиг. 19A** показаны прогнозируемые и ожидаемые результаты концентрации HDL-CE (мг/дл) с течением времени при использовании различных нагрузочных доз (LD)

MEDI6012 (LD 160 мг, 200 мг, 240 мг, 280 мг или 320 мг) и поддерживающей дозы MEDI6012 160 мг. На **фиг. 19B** показаны прогнозируемые и ожидаемые результаты концентрации HDL-CE (мг/дл) с течением времени при использовании различных нагрузочных доз (LD) MEDI6012 (LD 160 мг, 200 мг, 240 мг, 280 мг или 320 мг) и поддерживающей дозы MEDI6012 100 мг. На **фиг. 19C** показаны прогнозируемые и ожидаемые результаты концентрации HDL-CE (мг/дл) с течением времени при использовании различных нагрузочных доз (LD) MEDI6012 (LD 160 мг, 200 мг, 240 мг, 280 мг или 320 мг) и поддерживающей дозы MEDI6012 120 мг. На **фиг. 19D** показаны прогнозируемые и ожидаемые результаты концентрации HDL-CE (мг/дл) с течением времени при использовании различных нагрузочных доз (LD) MEDI6012 (LD 160 мг, 200 мг, 240 мг, 280 мг или 320 мг) и поддерживающей дозы MEDI6012 80 мг. Как на **фиг. 18A – 18D**, так и на **фиг. 19A – 19D** показано, что хотя и происходит накопление CE, оно происходит в LDL, а не в HDL-CE. В соответствии с описанными способами поддерживающие дозы LCAT (например, rhLCAT или MEDI6012), вводимые субъектам, представляют собой дозы, которые приводят к минимальному или накоплению или к отсутствию накопления CE.

На **фиг. 20A – D** представлены графики, показывающие наблюдаемые дозы MEDI6012, при использовании которых было достигнуто небольшое количество частиц VVL-HDL или их отсутствие и небольшое количество частиц VL-HDL (мг/дл) как результат активности фермента LCAT (MEDI6012) после введения субъектам в исследовании SAD. Из результатов анализа видно, что доза MEDI6012, составляющая 240 мг, привела к повышению VVL-HDL на 2 мг/дл и к повышению VL-HDL на 17 мг/дл. Доза MEDI6012, равная 80 мг, приводила к отсутствию повышения VVL-HDL и к повышению VL-HDL на 2 мг/дл.

На **фиг. 21A – 21C** представлены схематические изображения параметров моделирования, используемых для моделирования/прогнозирования, выполненного для в/в введения доз MEDI6012 для когорты 4 в исследовании MAD, на основе моделирования, выполненного для введения доз rhLCAT ACP501, ассоциированного с обратным транспортом холестерина (RCT), как сообщается в публикации Bosch, R. et al., озаглавленной "A mechanism-based model is able to simultaneously explain the effect of rhLCAT and HDL mimetics on biomarkers of reverse cholesterol transport", представленной на собрании Группы по популяционному подходу в Европе (PAGE) в 2015 году, в Херсониссосе, Крит, Греция; (пример 3 ниже). На **фиг. 21A** показан схематический обзор

характеристик модели. На **фиг. 21В** показано схематическое представление интегрированной модели для RCT. На **фиг. 21А и 21В в 1)** указано, что малые частицы пре β -HDL в кровотоке захватывают холестерин из периферической ткани. **2)** показано, что LCAT катализирует превращение холестерина в СЕ; **3)** показано, что СЕ перемещается к центру частицы HDL, превращая ее в крупную частицу α -HDL; и **4)** показано, что СЕ в α HDL возвращается в печень либо **4а)** непосредственно, либо **4б)** через LDL посредством CETP и рецепторов LDL на печени. На схематических изображениях параметры, выделенные жирным шрифтом: привязаны к значениям из литературных данных; параметры, выделенные черным: получены на основе условий равновесного состояния (k_{84} фиксирован к 10 ч^{-1}); и параметры, выделенные серым: повторно оценивали в Nonmem после включения данных CSL112. На **фиг. 21С** представлено описание интеграции HDL-C и apoA1 в одну модель, как это показано на **фиг. 21А и 21В**.

На **фиг. 22А и 22В** показаны графики концентраций HDL-C в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которые получали MEDI6012 в дозе 300 мг (день 1), затем MEDI6012 в дозе 150 мг (день 3), а затем MEDI6012 в дозе 100 мг (день 10) путем в/в струйного введения, по сравнению с плацебо, как это определено в исследовании MAD, описанном в примере 3 в данном документе. На **фиг. 22А** показана концентрация HDL-C в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которым вводили MEDI6012 по схеме с в/в струйным введением доз, по сравнению с контролем плацебо. На **фиг. 22В** показано изменение от исходного уровня концентрации HDL-C в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которым вводили MEDI6012 по схеме с в/в струйным введением доз, по сравнению с контролем плацебо.

На **фиг. 23А и 23В** показаны графики концентрации (уровней) LDL-C (прямое измерение с помощью стандартного лабораторного теста) в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которые получали MEDI6012 в дозе 300 мг (день 1), затем MEDI6012 в дозе 150 мг (день 3), а затем MEDI6012 в дозе 100 мг (день 10) путем в/в струйного введения, по сравнению с плацебо, как это определено в исследовании MAD, описанном в примере 3 в данном документе. На **фиг. 23А** показана концентрация LDL-C в сыворотке крови (прямое измерение с помощью стандартного лабораторного анализа) с течением времени у субъектов, которым вводили MEDI6012 по схеме с в/в струйным введением доз. На **фиг. 23В** показано изменение от исходного уровня концентрации LDL-C в сыворотке крови (прямое измерение с помощью стандартного лабораторного анализа)

с течением времени у субъектов, которым вводили MEDI6012 по схеме с в/в струйным введением доз.

На **фиг. 24А** и **24В** показаны графики концентрации аполипопротеина В (apoB) в сыворотке крови у субъектов, которые получали MEDI6012 в дозе 300 мг (день 1), затем MEDI6012 в дозе 150 мг (день 3), а затем MEDI6012 в дозе 100 мг (день 10) путем в/в струйного введения, по сравнению с плацебо, как это определено в исследовании MAD, описанном в примере 3 в данном документе. На **фиг. 24А** показана концентрация apoB в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которым вводили MEDI6012 по схеме с в/в струйным введением доз. На **фиг. 24В** показано изменение от исходного уровня концентрации apoB в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которым вводили MEDI6012 по схеме с в/в струйным введением доз.

На **фиг. 25А** и **25В** показаны графики концентраций apoB в сыворотке крови с течением времени у субъектов, которые получали MEDI6012 в дозе 300 мг (день 1), затем MEDI6012 в дозе 150 мг (день 3), а затем MEDI6012 в дозе 100 мг (день 10) путем в/в струйного введения, по сравнению с плацебо, как это определено в исследовании MAD, описанном в примере 3 в данном документе. На **фиг. 25А** показана концентрация apoA1 в сыворотке крови с течением времени у субъектов, у которых использовали схему введения доз MEDI6012 с в/в струйным введением. На **фиг. 25В** показано изменение от исходного уровня концентрации apoA1 в сыворотке крови с течением времени у субъектов, у которых использовали схему введения доз MEDI6012 с в/в струйным введением.

На **фиг. 26А** показаны скорректированные относительно исходного уровня уровни HDL-C, полученные в результате моделирующего/имитационного анализа (сплошные и пунктирные линии), по сравнению с наблюдаемыми данными (отдельные точки данных: круги и квадраты) в результате введения MEDI6012 в когорте 3 и когорте 4 исследования MAD (от дня 0 до дня 70). Моделирующие/имитационные анализы, упомянутые выше и в описаниях фигур ниже, проводились в значительной степени на основе данных и результатов, полученных в результате клинических исследований SAD и MAD, как это описано в примерах 1 и 2 в данном документе. На **фиг. 26В** показана прогнозируемая модель (пунктирная линия) и наблюдаемые данные (кружки) как результат введения MEDI6012 в когорте 4 только исследования MAD (от дня 0 до дня 70). На **фиг. 26С** показаны скорректированные относительно исходного уровня HDL-C, полученные в результате моделирующего/имитационного анализа (сплошные и пунктирные линии), по

сравнению с наблюдаемыми данными (отдельные точки данных: круги и квадраты) как результат введения MEDI6012 в когорте 3 и когорте 4 исследования MAD (от дня 0 до дня 5).

На **фиг. 27A – D** показаны наблюдаемые результаты по всем когортам (когортам 1–4) исследования MAD, как это определено в примерах 2 и 3 в данном документе. Субъектам в когорте 1 исследования MAD проводили в/в инфузию MEDI6012 в дозе 40 мг в дни 1, 8 и 15. Субъектам в когорте 2 исследования MAD проводили в/в инфузию MEDI6012 в дозе 120 мг в дни 1, 8 и 15. Субъектам в когорте 3 исследования MAD проводили в/в инфузию MEDI6012 в дозе 300 мг в дни 1, 8 и 15. Субъектам в когорте 4 исследования MAD проводили в/в струйное введение MEDI6012 в дозе 300 мг в день 1, затем MEDI6012 в дозе 150 мг в день 3, а затем MEDI6012 в дозе 100 мг в день 10. На **фиг. 27A** показано наблюдаемое изменение от исходного уровня концентрации HDL-C в сыворотке крови с течением времени в когортах 1–4 исследования MAD. На **фиг. 27B** показано наблюдаемое изменение от исходного уровня концентрации ApoA1 в сыворотке крови с течением времени в когортах 1–4 исследования MAD. На **фиг. 27C** показано наблюдаемое изменение от исходного уровня концентрации LDL-C в сыворотке крови (прямое измерение) с течением времени в когортах 1–4 исследования MAD. На **фиг. 27D** показано наблюдаемое изменение от исходного уровня концентрации ApoB в сыворотке крови с течением времени в когортах 1–4 исследования MAD.

На **фиг. 28A – 28D** представлены графики размаха для площади под кривой зависимости «концентрация-время» (AUC) от 0 до 96 часов после 1-й дозы и после 3-й дозы, показывающие уровни HDL-C, ApoA1, LDL-C и ApoB у субъектов в когортах 1–4 после введения MEDI6012, как это описано для исследования MAD в примерах 2 и 3 данного документа. На **фиг. 28A** показана $AUC_{0-96ч}$ HDL-C для субъектов из когорт 1–4 исследования MAD. На **фиг. 28B** показана $AUC_{0-96ч}$ ApoA1 для субъектов из когорт 1–4 исследования MAD. На **фиг. 28C** показана $AUC_{0-96ч}$ LDL-C для субъектов из когорт 1–4 исследования MAD. На **фиг. 28D** показана $AUC_{0-96ч}$ ApoB для субъектов из когорт 1–4 в исследовании MAD.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В настоящем изобретении раскрыты способы лечения заболевания сердца, ишемической болезни сердца и/или других заболеваний и состояний, ассоциированных с сердцем, и обеспечения защиты от них, путем введения нуждающимся субъектам (пациентам) очищенного и выделенного фермента лецитин-холестерин-ацилтрансферазы

(LCAT) человека, в частности рекомбинантного фермента лецитин-холестерин-ацилтрансферазы человека (rhLCAT), называемого в данном документе MEDI6012 (ранее известного как ACP501) в недавно разработанных клинически предпочтительных дозах и схемах введения доз, описанных в данном документе.

Способы по настоящему изобретению обеспечивают терапевтически и/или профилактически эффективные дозы фермента LCAT за счет введения rhLCAT или MEDI6012 субъектам (пациентам) с целью лечения ряда заболеваний и состояний, связанных с сердцем. Данные способы непосредственно обеспечивают субъектам фермент LCAT, который играет активную роль в этерификации свободного холестерина в сложные эфиры холестерина (CE), что способствует созреванию частиц липопротеинов высокой плотности (HDL) и повышает и поддерживает в плазме и сыворотке крови терапевтические концентрации продуктов метаболизма липидов, например apoA1 и/или функциональных HDL-C, которые связаны с более низким риском возникновения заболевания сердца и атеросклероза. Таким образом, описанные в данном документе способы, включающие дозы и схемы введения доз фермента LCAT, такого как rhLCAT или MEDI6012, обеспечивают эффективное лечение и защиту от заболеваний и патологий сердца и связанных с сердцем, таких как инсульт (ишемический инсульт), атеросклероз, инфаркт миокарда или апоптоз миокардиоцитов, у нуждающихся субъектов (пациентов), например у пациентов, испытывающих острые или хронические сердечные события, которые угрожают их текущей и долгосрочной сердечной функции и их общему здоровью.

В частности, способы по настоящему изобретению обеспечивают эффективную терапевтическую пользу, связанную с использованием описанных доз rhLCAT или MEDI6012 и схем лечения, включающих схемы введения доз rhLCAT или MEDI6012, с целью лечения субъекта, у которого имеется заболевание сердца, ишемическая болезнь сердца и/или другие заболевания или состояния, ассоциированные с сердцем, например, острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, нестабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS), сердечная недостаточность (HF), застойная HF, HF с госпитализацией, сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса (EF), сердечная недостаточность с сохраненной EF, инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI), инфаркт миокарда без подъема сегмента ST (non-STEMI)

или заболевание, патология или состояние, связанные или ассоциированные с сердцем или заболеванием сердца, с наследственной предрасположенностью или приобретенные, такие как инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, ишемическая кардиомиопатия, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы, без ограничения причины.

Практическое применение способов по настоящему изобретению приводит в результате к повышению уровня фермента LCAT и, следовательно, активности фермента у субъекта, которого лечат с использованием ghLCAT или MEDI6012, за счет чего в свою очередь продуцируются сложные эфиры холестерина (CE) с повышением уровней CE у субъекта. Соответственно, повышение уровня активности LCAT и/или продуцирования сложных эфиров холестерина могут служить маркерами эффективности терапевтического введения и лечения. Способы, описанные в данном документе, дополнительно охватывают введение ghLCAT или MEDI6012 в качестве активатора LCAT или играющего роль в активации LCAT для повышения активности LCAT до терапевтических уровней у нуждающегося субъекта, такого как пациент с заболеванием сердца или заболеванием коронарных артерий. В некоторых вариантах осуществления введение ghLCAT или MEDI6012 в дозировках и в соответствии со схемами введения доз, описанными в данном документе, может включать другой тип активатора LCAT, такой как малая молекула или биологическое вещество (например пептид, полипептид или моноклональное антитело).

Применение способов по настоящему изобретению также приводит к повышению концентраций (уровней) в сыворотке и плазме крови биомаркеров, таких как apoA1 и/или HDL-C, которые ассоциированы со снижением риска возникновения сердечного или сердечно-сосудистого заболевания, например CAD или MI, и с уменьшением в организме вредных эффектов, вызываемых сердечным или сердечно-сосудистым заболеванием. Способы также приводят к отсутствию изменения или изменению (или даже снижению) концентраций (уровней) биомаркеров, таких как частицы LDL-C и apoB, которые связаны с повышенным риском возникновения заболевания сердца или неблагоприятного исхода заболевания сердца или лечения. Следует понимать, что термины "введение доз или схемы введения доз", "схемы лечения", "графики введения доз" и "графики лечения" используются в данном документе взаимозаменяемо. Термины "субъект" и "пациент" также используются в данном документе взаимозаменяемо.

Фермент лецитин-холестерин-ацилтрансфераза (LCAT)

Лецитин-холестерин-ацилтрансфераза (LCAT), плазменный гликопротеиновый фермент, который продуцируется и секретируется печенью, катализирует синтез сложных эфиров холестерина (CE) из свободного (неэтерифицированного) холестерина и фосфатидилхолина (лецитина), присутствующих в липопротеинах плазмы крови. У людей приблизительно 90% CE в плазме крови образуются с помощью фермента LCAT, при этом реакция в основном происходит на HDL (α -LCAT-активность) и в меньшей степени на частицах, содержащих аполипопротеин В (apoB) (β -LCAT-активность). Этерификация холестерина посредством LCAT обеспечивает поддержание уровней HDL (HDL-CE) за счет способствования созреванию небольших дисковидных форм HDL (называемых частицами пре β -HDL и α 4-HDL) в более крупные сферические формы HDL (называемые частицами α 1-3-HDL), которые имеют более длительный период полужизни. У людей большая часть сложных эфиров холестерина HDL (HDL-CE) в дальнейшем переносится в обмен на триглицериды (TG) на липопротеины очень низкой плотности (VLDL), липопротеины промежуточной плотности и липопротеины низкой плотности (LDL) с помощью белка-транспортера сложных эфиров холестерина (CETP).

Количество или концентрацию LCAT или активность LCAT в сыворотке крови можно определить с помощью нескольких методик, известных специалистам в данной области техники, например с помощью флуориметрического анализа. Массу LCAT можно определить, например, с помощью конкурентного радиоиммунного анализа методом двойной системы антител. Также известны стандартные методики для измерения абсолютной активности LCAT в образце сыворотки крови или крови и для измерения скорости этерификации холестерина. См. например, J.J. Albers et al., 1986, *Methods in Enzymol.*, 129:763-783 и M.P.T. Gillett and J.S. Owens, Chapter 7b, Eds.: C.A. Converse and E.R. Skinner, in *Lipoprotein Analysis - A Practical Approach*, pp. 187-201. В качестве неограничивающего примера активность LCAT может быть определена путем измерения превращения радиоактивно меченного холестерина в сложный эфир холестерина после инкубации фермента и радиоактивно меченных субстратов лецитин-холестериновой липосомы, содержащих аполипопротеин A1 (apoA1). Скорость этерификации эндогенного холестерина можно определить путем измерения скорости превращения меченого холестерина в сложный эфир холестерина после инкубации свежей плазмы крови, меченой следовым количеством радиоактивного холестерина, путем уравнивания со смесью [14 C]-холестерина и альбумина при 4°C (см. патент США № 6635614). Скорость

этерификации эндогенного холестерина является лучшей показателем терапевтической активности LCAT, поскольку она отражает не только степень активности LCAT, присутствующей в сыворотке крови, но и также природу и количество субстрата и кофакторов, присутствующих в плазме крови. Таким образом, скорость этерификации холестерина не обязательно пропорциональна массе LCAT или абсолютной активности LCAT *in vivo*. В другом способе превращение свободного холестерина в этерифицированный холестерин посредством LCAT может быть измерено с помощью двумеченого фосфатидилхолина (лецитина) в качестве субстрата LCAT. Будучи нерасщепленными, флуорофоры в двумеченом субстрате находятся в погашенном состоянии, и при гидролизе посредством LCAT в положении *sn*-2 фосфатидилхолина образуются цепочки флуоресцентного мономера, которые можно количественно определить в флуоресцентном ридере для микропланшетов. (Cell Biolabs, Inc., Сан-Диего, Калифорния, США).

MEDI6012 – рекомбинантный LCAT человека

MEDI6012 (ранее называемый ACP501) представляет собой рекомбинантную человеческую (rh) лецитин-холестерин-ацилтрансферазу (LCAT), (rhLCAT), ферментный белок массой примерно 60 килодальтон, гликозилированный, одноцепочечный, состоящий из 416 аминокислот, который получают в культуре клеток яичника китайского хомячка (CHO) и выделяют и очищают из нее. MEDI6012 и ACP501 имеют идентичные аминокислотные последовательности и поэтому считаются одним и тем же молекулярным объектом. Продукт MEDI6012, полученный из культуры клеток CHO, характеризуется высокими уровнями ферментативной активности из расчета на мг белка и чистотой продукта и технологической чистотой, что является предпочтительным для использования у людей.

Настоящее изобретение охватывает способы, в которых rhLCAT, в виде MEDI6012, обеспечивается в терапевтических дозах, которые вводят субъектам с использованием схем введения доз с целью лечения, уменьшения или облегчения тяжести серьезных и нежелательных эффектов острого или хронического (сердечного) заболевания сердца, сердечно-сосудистого заболевания, заболевания коронарных артерий, атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания (CVD), острого коронарного синдрома (ACS) и/или их симптомов. В одном варианте осуществления представлены способы, включающие терапевтическое введение rhLCAT или MEDI6012 с целью снижения риска ишемических событий в качестве дополнения к стандартной терапии

пациентов с ACS. В другом варианте осуществления введение rhLCAT или MEDI6012 в эффективных величинах доз обеспечивает кардиотерапевтические, кардиопротективные и антиатерогенные (атеропротективные) эффекты и миокардиопротективные эффекты путем предотвращения фиброза и гипертрофии миокарда у субъекта. В других вариантах осуществления введение rhLCAT или MEDI6012 в эффективных величинах доз обеспечивает лечение и/или обеспечивает протективные эффекты в отношении острого или хронического заболевания сердца, сердечно-сосудистого заболевания, заболевания коронарных артерий (CAD), стабильного CAD, атеросклероза, атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания (CVD), стабильного CVD, нестабильного CVD, острого коронарного синдрома (ACS), сердечной недостаточности (HF), застойной HF, HF с госпитализацией, сердечной недостаточности со сниженной фракцией выброса (EF), сердечной недостаточности с сохраненной EF, инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI), инфаркта миокарда без подъема сегмента ST (non-STEMI) или заболевания, патологии или состояния, связанных или ассоциированных с сердцем или заболеванием сердца, с наследственной предрасположенностью или приобретенные, таких как инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, ишемическая кардиомиопатия, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы.

Не ограничиваясь конкретной теорией, введение MEDI6012 пациентам с заболеванием сердца и/или острым коронарным заболеванием требуется для обеспечения повышения мобилизации холестерина из тканей, включая холестерин из атеросклеротических бляшек в коронарных артериях, что приводит к их стабилизации и, как следствие, к снижению риска возникновения повторных серьезных нежелательных сердечно-сосудистых событий. MEDI6012 эффективно обеспечивает улучшенное созревание HDL, функцию HDL и обратный транспорт холестерина (RCT) из тканей в печень с целью его удаления. Кроме того, как описано и приведено в качестве примера в данном документе, введение MEDI6012 ("введение дозы MEDI6012") пациентам хорошо переносится и не вызывает клинических патологий или нежелательных изменений состояния организма пациентов, которым его вводят.

Атеросклероз, первопричинное патологическое состояние в основе атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания (CVD), является прогрессирующим состоянием, связанным со значительной коморбидностью и

смертностью у больных пациентов. Избыток холестерина в артериях вызывает многочисленные неблагоприятные эффекты, такие как воспаление, уменьшение эндотелий-зависимой вазорелаксации и развитие нестабильности бляшек. Периоды нестабильности бляшек могут привести к острому коронарному синдрому (ACS), спектру опасных для жизни клинических состояний, которые включают нестабильную стенокардию и сердечный приступ, т. е. инфаркт миокарда без подъема сегмента ST и с подъемом сегмента ST (non-STEMI (NSTEMI) и STEMI соответственно).

Разрыв бляшки вызван растворением фиброзной покрывки; само растворение происходит в результате высвобождения металлопротеиназ (коллагеназ) из активированных воспалительных клеток, что сопровождается активацией и агрегацией тромбоцитов, активацией пути коагуляции и вазоконстрикцией. Типичное или стандартное лечение ACS ориентировано на лекарственные средства, которые быстро ингибируют агрегацию тромбоцитов и/или образование сгустков крови, например на антиагреганты, включая аспирин и антагонисты рецептора аденозиндифосфата, такие как клопидогрел, прасугрел и тикагрелор, которые можно вводить перорально, вместе с антагонистами рецепторов П₂/Уа, вводимыми внутривенно, абциксимабом, эптифибатидом и тирофибаном.

Широко используемые антикоагулянты включают низкомолекулярные гепарины, ингибиторы тромбина и ингибиторы фактора Ха. До сегодняшнего дня медикаментозная терапия, а также чрескожные коронарные вмешательства (PCI); баллонная ангиопластика и установка стента были сфокусированы только на очаге, который вызвал состояние, но они не позволяют адекватно устранить первопричину уязвимости бляшек по отношению к разрыву (т. е. отложению холестерина) или снизить риск новых разрывов бляшек в других местах. Хотя длительная гиполипидемическая терапия статинами снижает риск развития как первичных, так и вторичных сердечно-сосудистых (CV) событий за счет снижения уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) в плазме крови, статины не могут быстро стабилизировать бляшку, которая закупоривает артерию.

Описанные в данном документе способы, включающие введение rhLCAT или MEDI6012 с использованием терапевтических (и кардио-, и миокардиопротективных) доз и схем введения доз, обеспечивают пациентам эффективные и выгодные виды терапии с рядом положительных исходов при лечении сердечного и сердечно-сосудистого заболеваний у пациентов и улучшения сердечно-сосудистых состояний и их симптомов, а именно: быстрое удаление холестериновых бляшек, стабилизацию легко уязвимых

бляшек у пациентов с ACS, предотвращение апоптоза миокардиоцитов и снижение вероятности возникновения последующих ишемических событий, которые могут быть эффективными как в каротидной, так и в периферической сосудистой сети.

Способы, включающие применение доз и схем введения доз rhLCAT или MEDI6012 субъектам, как это описано в данном документе, обеспечивают повышение HDL (HDL-C) и/или apoA1, что является кардиопротективным при остром инфаркте миокарда (MI). Поскольку введение LCAT быстро повышает уровни HDL и/или apoA1, данные способы лечения особенно предпочтительны в лечении острых состояний. Преимущества и польза описанных в данном документе способов хорошо согласуются с отчетами эпидемиологических и доклинических исследований, в которых установлено, что более высокие уровни HDL-C являются кардиопротективными у пациентов после MI и что инфузии миметиков HDL или apoA1 уменьшают размер инфаркта миокарда и улучшают систолическую функцию левого желудочка на моделях животных с острым MI. Например, фракция выброса (EF) после инфаркта ниже у пациентов с низким уровнем HDL-C, даже после исключения ишемической болезни сердца (CHD) на исходном уровне (Wang TD, et al., 1998, *Am J Cardiol*, 81:531–537; Kempen HJ, et al., 1987, *J Lab Clin Med*, 109:19-26); при этом инфузия миметика apoA1 CSL-111 на двух разных моделях мышей с острым MI показала увеличение массы жизнеспособного миокарда на 54% – 61%, уменьшение размера инфаркта на 21% – 26% и снижение рекрутинга лейкоцитов и нейтрофилов в участок инфаркта (Heywood, S.E. et al, 2017, *Sci. Transl. Med.*, 9(411), DOI: 10.1126/scitranslmed.aam6084); инфузия миметика apoA1 ETC-216 на модели кроликов с ишемически-реперфузионным повреждением приводила к заметному уменьшению площади инфаркта (Marchesi et al., 2004, *J Pharmacol Exp Ther.*, 311(3):1023-31); аденовирусный перенос apoA1 за 2 недели до MI на модели мышей приводил к уровням apoA1, которые были в 1,5 раза выше, чем у контролей, и показал повышение выживаемости (~ 2x), замедление распространения инфаркта, подавление дилатации левого желудочка (LV) и улучшение гемодинамики (Gordts et al, 2013, *Gene Therapy*, 20, 1053-1061); инфузия HDL по сравнению с инфузией HDL вместе с его составным компонентом сфингозин-1-фосфатом (S1P) на модели мышей с ишемически-реперфузионным повреждением показала уменьшение площади инфаркта на 20% при использовании HDL отдельно и уменьшение размера инфаркта на 40% при использовании HDL и S1P (Theilmeier et al, 2006, *Circulation*, 114:1403-1409); и инфузии ApoA1 уменьшали размер инфаркта у крыс линии Wistar за счет способствующих выживаемости

киназных путей RISK/SAFE (Akt, ERK1/2, STAT-3) (Kalakech et al, 2014, *PLoS ONE*, 9(9): e107950). Повышение apoA1, о котором сообщают Gordt et al, и Marchesi et al, аналогично повышению apoA1, выявленному после введения MEDI6012 (rhLCAT) в дозах, описанных в данном документе. Соответственно, способы, описанные в данном документе, обеспечивают дозы MEDI6012, которые особенно полезны для неотложного лечения и для уменьшения возможности увеличения размера инфаркта миокарда за счет повышения уровней HDL-C и/или apoA1. Меньший размер инфаркта свидетельствует о лучших клинических исходах, то есть об уменьшении сердечной недостаточности и о лучшей выживаемости (Stone, G.W. et al., 2016, *J Am Coll Cardiol*, 67(14):1674-83).

Способы лечения, включающие введение rhLCAT (MEDI6012)

Способы, описанные в данном документе, обеспечивают медицинские и клинические преимущества, связанные с применением доз и графиков введения доз (также называемых в данном документе схемами введения доз или схемами лечения) rhLCAT или MEDI6012 (или их фармацевтически приемлемой композиции или состава) у субъекта, который нуждается в лечении, например, у субъекта, у которого имеется без ограничения заболевание сердца, ишемическая болезнь сердца или заболевание коронарных артерий (атеросклероз). В некоторых вариантах осуществления способы лечения, описанные в данном документе, были разработаны на основе результатов клинических исследований на людях. В некоторых вариантах осуществления способы лечения, описанные в данном документе, были разработаны на основе моделирующих и имитационных анализов *ex vivo*, которые были основаны на результатах доклинических исследований, а также на данных и результатах клинических исследований на людях. Во всех случаях способы привели к открытию и неожиданно полезной эффективности доз rhLCAT или MEDI6012 и схем введения доз, включающих rhLCAT или MEDI6012, с целью применения у субъектов для достижения благоприятных и полезных терапевтических и защитных результатов у индивидуумов, подвергаемых лечению, с ограниченными и/или управляемыми нежелательными побочными эффектами или нецелевыми эффектами.

Полезные терапевтические эффекты после применения доз и схем введения доз rhLCAT или MEDI6012 у субъектов, как это описано в данном документе, анализировали путем измерения и оценки концентраций (уровней) нескольких разных компонентов метаболизма холестерина и липидов в биологических образцах, например, в крови, плазме

крови или сыворотке крови, полученных от субъектов, подвергаемых лечению, в ходе и после применения схем лечения (введения доз).

Способы лечения с введением однократной дозой, включающие rhLCAT (MEDI6012)

Как правило, исследования с однократным введением в нарастающих дозах (SAD) включают небольшую группу субъектов, которые получают однократную дозу соединения или лекарственного средства в клинических условиях, обычно в отделениях клинических исследований или CRU. В ходе исследований осуществляют тщательный контроль субъектов в отношении оценки безопасности, и проводят фармакокинетическую (PK) оценку в течение предварительно заданного времени. Если признано, что соединение хорошо переносится, а PK-данные в целом соответствуют ожидаемым, то дозу повышают либо в той же группе, либо в другой группе здоровых субъектов в соответствии с утвержденным протоколом. Дозу продолжают повышать обычно до тех пор, пока максимальная доза не будет достигнута в соответствии с протоколом, в случае если не будет достигнуто предварительно определенное максимальное воздействие или не станут очевидны непереносимые побочные эффекты. Кроме того, повышение дозы может быть прекращено (или может продолжаться с большей осторожностью, чем планировалось) при наличии доказательств сверхпропорциональной взаимосвязи между дозой и воздействием, так что воздействие при более высоких уровнях дозы становится труднее прогнозировать. Исследования SAD обычно включают последовательные группы в параллельном дизайне для максимального воздействия или могут иметь перекрестный дизайн для предоставления большей информации о линейности дозы. Чтобы свести к минимуму эффекты систематической ошибки, субъектов обычно случайно распределяют в группу лечения с использованием сгенерированных компьютером статистических кодов рандомизации. Такие исследования также обычно контролируются с помощью плацебо, чтобы определить, обусловлены ли наблюдаемые эффекты исследуемым лекарственным средством или условиями окружающей среды, и их часто проводят в виде односторонне слепого (по отношению к субъекту), чтобы обеспечить возможность принятия обоснованного решения о повышении дозы, при этом данные безопасности и PK являются доступны исследователю для обзора.

В одном аспекте настоящего изобретения представлены способы лечения, описанные в данном документе, включающие введение одной или нескольких доз активного лекарственного средства, а именно: выделенного и очищенного фермента

LCAT, например rhLCAT или MEDI6012, с целью лечения субъекта, у которого имеется острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS) или заболевание, или состояние, связанные или ассоциированные с сердцем или заболеванием сердца, такие как инсульт, ишемический инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, инфаркт миокарда и им подобные, и/или их симптомы. В конкретном варианте осуществления в способе вводят однократную дозу выделенного и очищенного фермента LCAT, например rhLCAT или MEDI6012. В другом конкретном варианте осуществления у субъекта имеется стабильное заболевание коронарных артерий (CAD). Такие методы введения доз были разработаны, в частности, на основе клинических исследований SAD, в которых различные дозы MEDI6012 вводили субъектам, чьи ответы и уровни компонентов, продуктов и побочных продуктов обмена холестерина и липидов (например, фармакодинамических (PD) маркеров) оценивали после введения MEDI6012 (см. пример 1). Указанные представляют собой PD-маркеры, которые могут оцениваться в образце, полученном от субъекта до, во время и/или после введения MEDI6012 субъекту. Оцениваемые PD-маркеры включают без ограничения HDL-C, а также дополнительные липиды и липопротеины, уровни которых оценивают и/или измеряют с целью описания и количественного определения воздействия MEDI6012 на метаболические пути холестерина и липидов, включая без ограничения общий холестерин (TC), свободный холестерин (FC), который является неэтерифицированным, сложные эфиры холестерина (CE), этерифицированный холестерин HDL (HDL-CE), неэтерифицированный холестерин HDL (HDL-UC), non-HDL-C, non-HDL-CE, non-HDL-UC, LDL-C (прямое измерение с помощью стандартного лабораторного теста), VLDL-C, TG, apoB, apoAI, apoAII, apoCIII или apoE. Например, иммунологические анализы, такие как твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), могут использоваться для определения характеристик и количественного определения пре β 1-HDL. Размер липопротеинов и количество частиц HDL, LDL и VLDL можно охарактеризовать с помощью ядерного магнитного резонанса (ЯМР) (LipoScience, Inc., Роли, Северная Каролина). В одном варианте осуществления образец, полученный от субъекта, представляет собой образец крови, сыворотки крови или плазмы крови.

В одном варианте осуществления способы включают введение нуждающемуся субъекту MEDI6012 в количестве 20–2000 мг. В одном варианте осуществления субъекту

вводят MEDI6012 в дозе 24–1600 мг. В одном варианте осуществления субъекту вводят MEDI6012 в дозе 24–800 мг. В ряде вариантов осуществления нуждающемуся субъекту вводят MEDI6012 в дозе, составляющей 20, 24, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 120, 140, 150, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320, 340, 360, 380mg, 400, 420, 440, 460, 480, 500, 520, 540, 560, 580, 600, 620, 640, 660, 680, 700, 720, 740, 760, 780, 800, 820, 840, 860, 880, 900, 920, 940, 960, 980, 1000, 1020, 1040, 1060, 1080, 1100, 1200, 1300, 1400, 1600, 1700, 1800, 1900, или 2000 миллиграмм (мг), включая их промежуточные значения. Специалисту в данной области техники будет понятно, что для типичного пациента, например пациента с заболеванием коронарных артерий (CAD), весом приблизительно 80 кг, доза 24 мг эквивалентна примерно 0,3 мг/кг; доза 80 мг эквивалентна примерно 1 мг/кг; доза 240 мг эквивалентна примерно 3 мг/кг; доза 800 мг эквивалентна примерно 10 мг/кг; и доза 1600 мг эквивалентна примерно 20 мг/кг. В ряде вариантов осуществления нуждающийся субъект страдает от острого или хронического заболевания сердца, сердечно-сосудистого заболевания, заболевания коронарных артерий (CAD), стабильного CAD, атеросклероза, атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания (CVD), стабильного CVD, нестабильного CVD, острого коронарного синдрома (ACS), сердечной недостаточности (HF), застойной HF, HF с госпитализацией, сердечной недостаточности со сниженной фракцией выброса (EF), сердечной недостаточности с сохраненной EF, инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI), инфаркта миокарда без подъема сегмента ST (non-STEMI) или заболевания, патологии или состояния, связанных или ассоциированных с сердцем или заболеванием сердца, с наследственной предрасположенностью или приобретенные, таких как инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, ишемическая кардиомиопатия, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы. В конкретном варианте осуществления у субъекта имеется стабильное заболевание коронарных артерий (CAD).

В одном варианте осуществления способы включают парентеральное введение дозы MEDI6012 нуждающемуся в этом субъекту. В одном варианте осуществления способы включают внутривенное введение дозы MEDI6012 нуждающемуся субъекту. В одном варианте осуществления дозу MEDI6012 вводят субъекту путем внутривенной (в/в) инфузии. В одном варианте осуществления способы включают подкожное введение дозы MEDI6012 нуждающемуся субъекту. В одном варианте осуществления дозу MEDI6012

вводят субъекту внутривенно в течение периода времени, составляющего от минут до часов. В одном из вариантов осуществления способы включают введение дозы MEDI6012 субъекту путем в/в или п/к введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 30 секунд, 1 минуту, 3 минуты, 5 минут, 10 минут, 15 минут, 30 минут, 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа или 5 часов или равного им, включая промежутки времени между этими значениями, в частности после поступления субъекта, у которого имеется болезнь сердца, сердечно-сосудистое состояние или атеросклеротическое состояние, в медицинское учреждение (например, в больницу, клинику, центр неотложной помощи, кабинет врача) или в центр, где присутствуют медицинский работник или клиницист или он способен помочь в введении дозы MEDI6012 субъекту.

В одном варианте осуществления способы включают введение дозы MEDI6012 субъекту немедленно или в течение короткого периода времени, например в течение минут, например, в течение периода времени, составляющего от приблизительно 30 секунд до 10 минут или равного ему, или в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–5 минут или равного ему, или в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты или равного ему, или в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–2 минуты или равного ему, и в течение промежутков времени между этими значениями при поступлении субъекта с сердечным состоянием или атеросклеротическим состоянием в медицинское учреждение или центр. В одном варианте осуществления MEDI6012 вводят внутривенно субъекту путем в/в струйного введения в течение короткого периода времени, отмеченного выше. В одном варианте осуществления болюсную дозу или нагрузочную дозу MEDI6012 вводят внутривенно субъекту путем в/в струйного введения. В других вариантах осуществления способы включают введение дозы MEDI6012 субъекту путем внутривенной инфузии или подкожного введения (например подкожной инъекции) в течение более длительного периода времени при поступлении субъекта в медицинское учреждение или центр или во время пребывания субъекта в медицинском учреждении или центре. В одном варианте осуществления дозу MEDI6012 вводят субъекту путем в/в инфузии в течение периода времени, составляющего от приблизительно 30 минут до 3 часов или равного ему, или в течение периода времени, составляющего от приблизительно 1 минуты до 3 часов или равного ему. В одном варианте осуществления дозу MEDI6012 вводят субъекту путем в/в инфузии в течение периода времени, составляющего от приблизительно 30 минут до 1 часа или равного ему. В конкретном варианте осуществления дозу MEDI6012 вводят

субъекту путем в/в инфузии в течение периода времени, составляющего приблизительно или равного 1 час. В ряде вариантов осуществления субъекту внутривенно вводят MEDI6012 в дозе 24, 80, 240, 600, 800 мг или 1600 мг. В одном варианте осуществления субъекту внутривенно вводят MEDI6012 в дозе 24 мг. В одном варианте осуществления субъекту внутривенно вводят дозу 80 мг. В одном варианте осуществления субъекту внутривенно вводят MEDI6012 в дозе 240 мг. В одном варианте осуществления субъекту внутривенно вводят MEDI6012 в дозе 600 мг. В одном варианте осуществления субъекту внутривенно вводят MEDI6012 в дозе 800 мг. В любом из вышеизложенных вариантов осуществления субъекту внутривенно вводят MEDI6012 в одной или нескольких из вышеуказанных доз.

В одном варианте осуществления дозу MEDI6012 вводят субъекту подкожно, например, путем подкожной (п/к) инфузии или инъекции. В одном варианте осуществления субъекту подкожно вводят MEDI6012 в дозе 80 или 600 мг. В конкретном варианте осуществления субъекту подкожно вводят MEDI6012 в дозе 80 мг. В конкретном варианте осуществления субъекту подкожно вводят MEDI6012 в дозе 600 мг. В любом из вышеизложенных вариантов осуществления субъекту подкожно вводят MEDI6012 в одной или нескольких из вышеуказанных доз.

В ряде вариантов осуществления способов, описанных в данном документе, у субъекта имеется острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, нестабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS), сердечная недостаточность (HF), застойная HF, HF с госпитализацией, сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса (EF), сердечная недостаточность с сохраненной EF, инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI), инфаркт миокарда без подъема сегмента ST (non-STEMI) или заболевание, патология или состояние, связанные или ассоциированные с сердцем или заболеванием сердца, с наследственной предрасположенностью или приобретенный, такие как инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, ишемическая кардиомиопатия, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы. В одном варианте осуществления субъект перенес инфаркт миокарда. В одном варианте осуществления у субъекта имеется острое или хроническое

заболевание, например острое или хроническое заболевание сердца и/или ассоциированное заболевание коронарных артерий, например стабильное заболевание коронарных артерий. В конкретном варианте осуществления у субъекта имеется стабильное заболевание коронарных артерий (CAD).

В ряде вариантов осуществления любого аспекта способов, описанных в данном документе, уровни или концентрации одного или нескольких следующих PD-маркеров: HDL (также называемого холестерином HDL (HDL-C) или этерифицированным холестерином HDL (HDL-CE)), этерифицированного холестерина (CE) или аполиipoproteина A1 (apoA1), повышаются (быстро или в течение более длительных периодов времени) после введения MEDI6012 субъекту, например субъекту, у которого имеется заболевание сердца и/или атеросклеротическое заболевание. Уровни PD-маркеров могут быть измерены или количественно определены в биологическом образце, полученном от субъекта. Биологический образец может включать образец жидкости организма, такой как кровь, сыворотка крови, плазма крови, моча, слюна и т. п. Образцы сыворотки крови или плазмы являются особенно подходящими для анализа PD-маркеров у субъектов, которым вводили дозу MEDI6012. В качестве конкретного примера, практическое применение способов, описанных в данном документе, приводит к повышению уровней HDL-C и/или apoA1 в сыворотке крови на примерно 50% в течение приблизительно 90 минут с повышением на по меньшей мере 90%, или на по меньшей мере 95%, или на по меньшей мере 98%, или на по меньшей мере 100% уровня HDL-C в сыворотке крови к приблизительно 6 часам у субъекта, которому вводили дозу LCAT (MEDI6012) в соответствии с настоящими способами. Кроме того, уровни apoA1 остаются повышенными в течение по меньшей мере 7 дней после внутривенной инфузии или подкожного введения MEDI6012.

В примере 1 в данном документе описано исследование SAD, проведенное для оценки однократного введения в нарастающих парентеральных дозах фермента rhLCAT MEDI6012 пациентам со стабильным заболеванием коронарных артерий (CAD), которые получали терапию статинами. Однократную дозу MEDI6012 вводили субъектам путем внутривенной инфузии или подкожной инъекции. Однократная инфузия вызывала дозозависимое повышение холестерина HDL (HDL-C), сложных эфиров холестерина HDL (HDL-CE) и общего CE, что согласуется с типичным механизмом действия фермента LCAT у субъектов. На основании данного исследования было установлено, что

однократная доза MEDI6012 вызывала дозозависимое повышение аполипопротеина A1 (apoA1), которое достигало максимума при дозах от 80 мг до 240 мг.

В другом варианте осуществления LCAT, такой как rhLCAT или MEDI6012, вводимый нуждающемуся субъекту в дозах 240 мг и выше, например, 300 мг, 400 мг, 500 мг, 600 мг, 700 мг или 800 мг, улучшает функцию частиц холестерина HDL, что, например, определено путем оценки способности оттока холестерина с использованием способов, известных в данной области техники. В другом варианте осуществления многократные дозы LCAT в меньших количествах (например, 20–200 мг, или 20–150 мг, или 20–100 мг) также могут улучшать функцию частиц холестерина HDL у субъектов, которым вводят rhLCAT или MEDI6012 в описанных количествах.

В другом варианте осуществления LCAT, такой как rhLCAT или MEDI6012, вводимый нуждающемуся субъекту в дозах, меньших или равных 100 мг, не вызывает накопления СЕ в частицах LDL. Соответственно, способы, описанные в данном документе, которые включают введение rhLCAT или MEDI6012 в дозах в количествах ≤ 100 мг, обеспечивают лечение различных сердечных, связанных с сердцем заболеваний, заболеваний сердечно-сосудистой системы и заболеваний коронарных артерий без накопления СЕ в частицах LDL. Описанные в данном документе способы введения доз, таким образом, охватывают продолжительное введение доз LCAT (rhLCAT или MEDI6012) с использованием различных доз и схем введения доз при условии, что накопление LDL-СЕ оценивают и/или контролируют как дозолимитирующий параметр у субъектов, подвергаемых лечению с помощью LCAT.

В еще одном варианте осуществления способы, включающие введение нуждающимся субъектам LCAT (rhLCAT или MEDI6012) в описанных дозах и при использовании описанных схем введения доз, приводят к снижению малых частиц LDL, которые являются атерогенными. Как отмечено в данном документе, наблюдали приблизительно 40% уменьшение малых частиц LDL при использовании rhLCAT или MEDI6012 в дозе 80 мг, и наблюдали приблизительно 80% уменьшение малых частиц LDL при использовании доз rhLCAT или MEDI6012 в количествах 240 мг и 800 мг.

Способы лечения многократными дозами, включающие rhLCAT (MEDI6012)

Как правило, исследования с многократным введением в нарастающих дозах для изучения PK и фармакодинамики (PD) многократных доз вводимого соединения или лекарственного средства проводят обычно в отделении для клинических исследований (CRU). Величины доз и интервалы введения доз (то есть время между последовательными

дозами) выбирают такие, которые, как прогнозируется, являются безопасными, исходя из данных, полученных из исследований с однократными дозами. Биологические образцы отбирают у субъектов и анализируют для определения PK-профилей и лучшего понимания того, как соединение или лекарство метаболизируется в организме. При многократном введении доз ключевой частью PK-анализа является выявление факта наличия или отсутствия накопления введенного соединения или лекарственного средства. Подобно исследованиям SAD, повышение дозы в исследованиях MAD происходит в соответствии с протоколом, при этом соблюдаются строгие критерии безопасности и PK. Величины доз и частоту введения доз выбирают для достижения терапевтических уровней лекарственного средства в системном кровотоке у субъекта с тем, чтобы уровни лекарственного средства оптимально поддерживались в равновесном состоянии в течение нескольких дней, чтобы обеспечить возможность контроля соответствующих параметров безопасности. Обычно для изучения "диапазона безопасности" при повторном введении доз необходимо изучить 2-3 величины доз при ожидаемой (ожидаемых) величине (величинах) терапевтической дозы и выше.

В одном аспекте настоящего изобретения представлены способы лечения, описанные в данном документе, включающие введение нескольких доз активного вещества, rhLCAT или MEDI6012 с целью лечения субъекта, у которого имеется заболевание сердца (сердечное заболевание), сердечно-сосудистое заболевание и/или атеросклеротическое заболевание или который перенес инфаркт миокарда. Такие способы введения доз были разработаны и определены на основе исследований с многократным введением в нарастающих дозах (MAD), проведенных в условиях клинического исследования, в которых повторные дозы MEDI6012 вводили субъектам, чьи ответы и уровни компонентов, продуктов и побочных продуктов обмена холестерина и липидов (например, фармакодинамических (PD) маркеров) также оценивали после введения MEDI6012. Как отмечено выше в случае исследований SAD, такие PD-маркеры, которые могут оцениваться в образце, полученном от субъекта до, во время и/или после введения MEDI6012 субъекту, включают без ограничения HDL-C; а также дополнительные липиды и липопротеины, уровни которых оцениваются и/или измеряются для полного понимания и описания эффектов MEDI6012 в отношении метаболического пути холестерина. Оцениваемые PD-маркеры включают без ограничения общий холестерин (TC), свободный холестерин (FC), сложный эфир холестерина (CE), этерифицированный холестерин HDL (HDL-CE), неэтерифицированный холестерин HDL (HDL-UC), non-HDL-C, non-HDL-CE,

non-HDL-C, LDL-C (прямое измерение), VLDL-C, TG, apoB, apoAI, apoAII, apoCIII, apoE. Например, иммунологические анализы, такие как твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), могут использоваться для определения характеристик и количественного определения пре β 1-HDL. Размер липопротеинов и количество частиц HDL, LDL, VLDL и т. д. можно охарактеризовать с помощью ядерного магнитного резонанса (ЯМР) (LipoScience, Inc., Роли, Северная Каролина).

В одном аспекте настоящего изобретения представлен способ лечения субъекта, который страдает от острого или хронического заболевания сердца, сердечно-сосудистого заболевания, заболевания коронарных артерий (CAD), стабильного CAD, атеросклероза, атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания (CVD), стабильного CVD, нестабильного CVD, острого коронарного синдрома (ACS), сердечной недостаточности (HF), застойной HF, HF с госпитализацией, сердечной недостаточности со сниженной фракцией выброса (EF), сердечной недостаточности с сохраненной EF, инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI), инфаркта миокарда без подъема сегмента ST (non-STEMI) или заболевания, патологии или состояния, связанных или ассоциированных с сердцем или заболеванием сердца, с наследственной предрасположенностью или приобретенные, таких как инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, ишемическая кардиомиопатия, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы, в котором страдающему субъекту вводят более одной (повторные) дозы MEDI6012 в течение курса лечения. В конкретном варианте осуществления представлен способ, в котором страдающему нуждающемуся субъекту вводят три дозы MEDI6012, при этом каждая вводимая доза MEDI6012 составляет от 25 мг до 2000 мг, или при этом каждая вводимая доза MEDI6012 составляет от 30 мг до 800 мг, или при этом каждая вводимая доза MEDI6012 составляет от 30 мг до 500 мг, или при этом каждая вводимая доза MEDI6012 составляет от 30 мг до 300 мг, или при этом каждая вводимая доза MEDI6012 составляет от 40 мг до 500 мг, или при этом каждая вводимая доза MEDI6012 составляет от 40 до 300 мг. В ряде вариантов осуществления каждая вводимая доза MEDI6012 составляет 25 мг, 30 мг, 40 мг, 50 мг, 60 мг, 70 мг, 80 мг, 90 мг, 100 мг, 120 мг, 130 мг, 140 мг, 150 мг, 160 мг, 180 мг, 190 мг, 200 мг, 220 мг, 230 мг, 240 мг, 250 мг, 260 мг, 280 мг, 290 мг, 300 мг, 320 мг, 330 мг, 340 мг, 350 мг, 360 мг, 380 мг, 390 мг, 400 мг, 420 мг, 430 мг, 440 мг, 450 мг, 460 мг, 480 мг, 490 мг, или 500 мг, включая их

промежуточные значения. В одном варианте осуществления дозы MEDI6012 вводят внутривенно, например, путем внутривенной (в/в) инфузии или внутривенного (в/в) струйного введения. В одном варианте осуществления субъекту вводят 40 мг MEDI6012 внутривенно в течение трех разных периодов времени. В конкретном варианте осуществления способ включает схему введения доз MEDI6012, согласно которой нуждающемуся субъекту внутривенно вводят первую дозу MEDI6012 40 мг, вторую дозу MEDI6012 40 мг через приблизительно неделю после первой дозы; и третью дозу MEDI6012 40 мг через приблизительно неделю после второй дозы, например, субъекту вводят дозу MEDI6012 40 мг в дни 1, 8 и 15. В другом конкретном варианте осуществления способ включает схему введения доз MEDI6012, согласно которой нуждающемуся субъекту внутривенно вводят первую дозу MEDI6012 120 мг, вторую дозу MEDI6012 120 мг через приблизительно неделю после первой дозы; и третью дозу MEDI6012 120 мг через приблизительно неделю после второй дозы, например, субъекту вводят дозу MEDI6012 120 мг в дни 1, 8 и 15. В другом конкретном варианте осуществления способ включает схему введения доз MEDI6012, согласно которой нуждающемуся субъекту внутривенно вводят первую дозу MEDI6012 300 мг, вторую дозу MEDI6012 300 мг через приблизительно неделю после первой дозы; и третью дозу MEDI6012 300 мг через приблизительно неделю после второй дозы, например, субъекту вводят дозу MEDI6012 300 мг в дни 1, 8 и 15. В одном варианте осуществления любого из вышеуказанных способов MEDI6012 вводят субъекту внутривенно, например, путем внутривенной (в/в) инфузии или внутривенного (в/в) струйного введения. В одном варианте осуществления MEDI6012 вводят внутривенно путем в/в струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–10 минут или равного ему, или составляющего приблизительно 1–5 минут или равного ему, или составляющего приблизительно 1–3 минуты или равного ему, или составляющего приблизительно 1–2 минуты или равного ему. В другом варианте осуществления MEDI6012 вводят внутривенно путем в/в инфузии в течение более длительного периода времени, например, в течение периода времени, составляющего от приблизительно 30 минут до более 1 часа (например, 1–5 часов) или равного ему или более конкретно в течение периода времени, составляющего приблизительно 1 час или равного ему. В конкретном варианте осуществления у субъекта имеется стабильное CVD.

Способ введения rhLCAT (MEDI6012), включающие нагрузочную дозу

В соответствии с другим аспектом настоящего изобретения данные статистического моделирования и прогнозируемые исходы, а также результаты, полученные в ходе клинических исследований, включающих введение доз и схемы введения доз rhLCAT или MEDI6012, описанные в данном документе, подтверждают ожидаемую пользу и успешное лечение как результат применения способов, включающих введение нагрузочной дозы MEDI6012 и последующих доз (также называемых поддерживающими дозами) MEDI6012 субъекту, у которого имеется заболевание сердца, ишемическая болезнь сердца и/или другие заболевания или состояния, ассоциированные с сердцем, например, острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, нестабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS), сердечная недостаточность (HF), застойная HF, HF с госпитализацией, сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса (EF), сердечная недостаточность с сохраненной EF, инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI), инфаркт миокарда без подъема сегмента ST (non-STEMI) или заболевание, патология или состояние, связанные или ассоциированные с сердцем или заболеванием сердца, с наследственной предрасположенностью или приобретенные, такие как инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, ишемическая кардиомиопатия, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы. Такие способы, включающие подход с многократными дозами, включающими нагрузочную дозу, для введения MEDI6012 с целью лечения заболевания сердца (или связанного с сердцем), сердечно-сосудистого заболевания и т. п., также повышают PD-биомаркеры, такие как один или несколько из следующих: HDL, HDL-CE, CE и/или apoA1, и при этом не вызывают повышения уровней apoB, что является показателем того, что какие-либо серьезные, нежелательные или вредные эффекты не связаны с каким-либо наблюдаемым повышением уровней LDL-C у субъекта, которого подвергают лечению согласно способам с многократными дозами.

Описанные способы, которые включают нагрузочную дозу фермента LCAT, например rhLCAT или MEDI6012, и более конкретно нагрузочную дозу, вводимую субъекту путем в/в струйного введения в течение приблизительно 1–3 минут, обеспечивают возможность лечения заболеваний и состояний, при которых время имеет

существенное значение. В отличие от других лекарственных средств rhLCAT или MEDI6012, вводимые в соответствии с описанными дозами и схемами введения доз, включающими нагрузочную дозу, могут повышать уровни HDL-C в течение нескольких минут. Следовательно, быстрое действие rhLCAT или MEDI6012 в описанных способах позволяет быстро и эффективно лечить острый MI, инсульт и острое повреждение почек. Эта особенность введения rhLCAT или MEDI6012 среди прочего обеспечивает очень благоприятное и жизненно важное лечение, которое может быть особенно эффективным у пациентов, которые нуждаются в немедленном неотложном лечении острых заболеваний, патологий или повреждений, таких как любое из перечисленного выше.

В другом аспекте представлен способ лечения, в котором у субъекта лечат острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, нестабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS), сердечную недостаточность (HF), застойную HF, HF с госпитализацией, сердечную недостаточность со сниженной фракцией выброса (EF), сердечную недостаточность с сохраненной EF, инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI), инфаркт миокарда без подъема сегмента ST (non-STEMI) или заболевание, патологию или состояние, связанные или ассоциированные с сердцем или заболеванием сердца, с наследственной предрасположенностью или приобретенные, такие как инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, ишемическая кардиомиопатия, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы, при этом способ включает введение нуждающемуся в этом субъекту трех доз MEDI6012, которые вводят с предварительно заданными интервалами, как, например, еженедельно или в дни 1, 3 и 10, при этом день 1 является первым днем введения дозы. В конкретном варианте осуществления способ включает введение субъекту с одним или несколькими вышеупомянутыми заболеваниями или состояниями сердца или сердечно-сосудистыми заболеваниями или состояниями (нуждающемуся субъекту) нагрузочной или болюсной дозы MEDI6012 в количестве, составляющем приблизительно 200–800 мг или равном ему, или в количестве, составляющем приблизительно 250–600 мг или равном ему, или в количестве, составляющем приблизительно 200–500 мг или равном ему, или в количестве, составляющем приблизительно 250–500 мг или равном ему, или в количестве,

составляющем приблизительно 300–500 мг или равном ему, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 300 мг.

В другом конкретном варианте осуществления способ включает введение субъекту с одним или несколькими вышеупомянутыми заболеваниями сердца или сердечно-сосудистыми заболеваниями или состояниями (нуждающемуся субъекту) первой (нагрузочной) дозы MEDI6012 в количестве, составляющем приблизительно или равном 200–800 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 250–600 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 200–500 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 250–500 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 300–500 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 300 мг (доза дня 1), с последующим введением субъекту второй (или поддерживающей) дозы MEDI6012 в количестве, составляющем приблизительно или равном 50–300 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 100–250 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 100–200 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 100–150 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 150 мг, в момент времени, составляющий приблизительно или равный 48 часам после дозы дня 1 (дозы дня 3), с последующим введением субъекту третьей (поддерживающей) дозы MEDI6012 в количестве, составляющем приблизительно или равном 50–300 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 100–200 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 100–150 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 100 мг, в момент времени приблизительно 7–10 дней, или 7 дней, или приблизительно неделю после дозы дня 3 (дозы дня 10). В одном варианте осуществления дозы MEDI6012 вводят субъекту путем внутривенного введения. В одном варианте осуществления вышеизложенных способов по меньшей мере первую дозу MEDI6012 вводят внутривенно субъекту путем в/в струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–5 минут или равного ему, или в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты или равного ему, или в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–2 минуты или равного ему. В некоторых вариантах осуществления вышеизложенных способов все дозы MEDI6012 вводят субъекту путем в/в струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–5 минут или равного ему, или в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты или равного ему. В одном варианте

осуществления вышеизложенного в/в струйное введение, например для введения нагрузочной или болюсной дозы, проводят субъекту в течение периода времени, составляющего приблизительно или равного 1 минуте. В одном варианте осуществления любого из вышеизложенных способов время введения дозы ghLCAT или MEDI6012 может находиться в пределах или быть равным ± 8 часам от заявленных времени введения доз, временных интервалов или периодов времени.

В конкретном аспекте представлен способ, в котором у субъекта лечат заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS) или заболевание, или состояние, связанные или ассоциированные с сердцем или сердечным заболеванием, такие как инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, MI и т. п., и/или их симптомов, при этом способ включает схему внутривенного (в/в) введения доз, которая включает введение нуждающемуся в этом субъекту нагрузочной (первой) дозы MEDI6012 в количестве 300 мг (доза дня 1) с последующим введением субъекту дозы MEDI6012 150 мг (второй или поддерживающей дозы) в промежуток времени, приблизительно составляющий 48 часов или равный ему, после введения дозы дня 1 (дозы дня 3) с последующим введением субъекту дозы MEDI6012 100 мг (третьей или третьей поддерживающей дозы) через приблизительно 7 дней после введения дозы дня 3 (дозы дня 10). В одном варианте осуществления дозы MEDI6012 вводят внутривенно субъектам. В одном варианте осуществления одну или несколько доз MEDI6012 вводят субъекту путем внутривенного (в/в) струйного введения. В одном варианте осуществления вышеизложенного способа по меньшей мере одну или несколько доз MEDI6012 вводят субъекту путем в/в струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–10 минут или равного ему, или составляющего приблизительно 1–5 минут или равного ему, или составляющего приблизительно 1–3 минуты или равного ему, или составляющего приблизительно 1–2 минуты или равного ему, или составляющего приблизительно или равного 1 минуте. В конкретном варианте осуществления вышеизложенного способа одну или несколько доз MEDI6012 вводят субъекту путем в/в струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты или равного ему. В конкретном варианте осуществления вышеизложенного способа у субъекта имеется стабильное атеросклеротическое CVD. В одном варианте осуществления вышеизложенного способа интервалы введения доз MEDI6012 могут

находиться в пределах ± 8 часов от заявленного времени введения доз или периодов времени.

В другом конкретном аспекте представлен способ лечения у субъекта острого или хронического заболевания сердца, сердечно-сосудистого заболевания, заболевания коронарных артерий (CAD), стабильного CAD, атеросклероза, атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания (CVD), стабильного CVD, нестабильного CVD, острого коронарного синдрома (ACS), сердечной недостаточности (HF), застойной HF, HF с госпитализацией, сердечной недостаточности со сниженной фракцией выброса (EF), сердечной недостаточности с сохраненной EF, инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI), инфаркта миокарда без подъема сегмента ST (non-STEMI) или заболевания, патологии или состояния, связанных или ассоциированных с сердцем или заболеванием сердца, с наследственной предрасположенностью или приобретенные, таких как инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, ишемическая кардиомиопатия, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы, при этом способ включает схему с двумя дозами, предусматривающую внутривенное введение субъекту MEDI6012 в дозе, составляющей приблизительно или равной 200–800 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 250–600 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 320–500 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 300–500 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 300 мг, в день 1 с последующим внутривенным введением второй дозы MEDI6012, составляющей приблизительно или равной 50–300 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 100–250, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 100–150 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 150 мг, с предварительно заданными интервалами времени. В одном варианте осуществления вторую дозу MEDI6012 вводят в течение промежутков времени, составляющего или приблизительно равного 1-10 дням, после дозы в день 1. В одном варианте осуществления вторую дозу MEDI6012 вводят в день 3 (например, 48 часов ± 8 часов) после дозы дня 1. В одном варианте осуществления по меньшей мере одну из доз MEDI6012 вводят субъекту путем в/в струйного введения. В одном варианте осуществления как первую, так и вторую дозу MEDI6012 вводят субъекту путем в/в струйного введения. В одном варианте осуществления в/в струйное введение осуществляют в течение периода времени,

составляющего приблизительно 1–10 минут или равного ему, или в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–5 минут или равного ему, или составляющего приблизительно 1–3 минуты или равного ему, или составляющего приблизительно 1–2 минуты или равного ему, или составляющего приблизительно 1 минуту или равного ему. В конкретном варианте осуществления вышеизложенного способа у субъекта имеется стабильное атеросклеротическое CVD.

В еще одном аспекте представлен способ лечения у субъекта острого или хронического заболевания сердца, сердечно-сосудистого заболевания, заболевания коронарных артерий (CAD), стабильного CAD, атеросклероза, атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания (CVD), стабильного CVD, нестабильного CVD, острого коронарного синдрома (ACS), сердечной недостаточности (HF), застойной HF, HF с госпитализацией, сердечной недостаточности со сниженной фракцией выброса (EF), сердечной недостаточности с сохраненной EF, инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI), инфаркта миокарда без подъема сегмента ST (non-STEMI) или заболевания, патологии или состояния, связанных или ассоциированных с сердцем или заболеванием сердца, с наследственной предрасположенностью или приобретенные, таких как инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, ишемическая кардиомиопатия, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы, при этом способ включает внутривенное введение субъекту шести доз MEDI6012 с предварительно заданными интервалами.

В одном варианте осуществления способ предусматривает схему с тремя дозами, согласно которой rhLCAT или MEDI6012 вводят внутривенно субъекту в первой дозе, составляющей приблизительно или равной 200–800 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 250–600 мг, или в количестве составляющем приблизительно или равном 300–500 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 300 мг, в день 1. После дозы дня 1 следует внутривенное введение MEDI6012 субъекту в дозе, составляющей приблизительно или равной 50–300 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 100–250 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 100–150 мг, или в количестве, составляющем приблизительно равном или равном 150 мг, в момент времени приблизительно 1–5 дней после введения дозы дня 1, например, в день 3 (например, 48 часов \pm 8 часов) после введения дозы дня 1 (называемой

"дозой дня 3"). После дозы дня 3 следует внутривенное введение субъекту MEDI6012 в дозе, составляющей приблизительно или равной 100–250 мг, или в количестве, составляющей приблизительно или равном 100–150 мг, или в количестве, составляющем приблизительно или равном 100 мг, с регулярными интервалами, например, еженедельно или в дни 10, 17, 24 и 31 после дозы дня 3. В одном варианте осуществления схема введения доз охватывает три дозы или шесть доз rhLcAT или MEDI6012, включая первую нагрузочную дозу. В одном варианте осуществления по меньшей мере одну дозу MEDI6012 вводят внутривенно субъекту путем в/в струйного введения. В одном варианте осуществления по меньшей мере две дозы MEDI6012 вводят субъекту путем в/в струйного введения. В одном варианте осуществления дозы дня 1 и дня 3 MEDI6012 вводят субъекту путем в/в струйного введения. В одном варианте осуществления в/в струйное введение осуществляют в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–10 минут или равного ему, или в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–5 минут или равного ему, или в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты или равного ему, или в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–2 минуты или равного ему. В конкретном варианте осуществления в/в струйное введение осуществляют в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты или равного ему, или составляющего приблизительно 1–2 минуты или равного ему.

В другом конкретном варианте осуществления способ включает схему с шестью дозами, которая предусматривает введение MEDI6012 внутривенно нуждающемуся субъекту в дозе 300 мг путем в/в струйного введения в день 1, с последующим внутривенным введением MEDI6012 в дозе 150 мг путем в/в струйного введения в день 3 (48 часов \pm 8 часов) после введения дозы дня 1, с последующим внутривенным введением MEDI6012 в еженедельных дозах приблизительно 100 мг в дни 10, 17, 24 и 31 после введения дозы дня 3. В ряде вариантов осуществления дозы, вводимые субъекту в дни 10, 17, 24 и 31, вводят путем в/в струйного введения. В ряде вариантов осуществления у субъекта имеется сердечно-сосудистое заболевание, стабильное CAD, стабильное атеросклеротическое CAD или острый инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI).

В ряде аспектов любого из вышеизложенных способов лечение субъекта, как это описано, приводит к повышению уровня в крови, плазме крови или сыворотке крови одного или нескольких следующих маркеров: HDL, HDL-C, HDL-CE, CE и/или apoA1. В

одном варианте осуществления повышение уровней маркера является дозозависимым. В ряде аспектов любого из вышеизложенных способов лечение субъекта, как это описано, приводит к снижению уровней apoB в крови, плазме крови или сыворотке крови. В ряде аспектов любого из вышеизложенных способов лечение субъекта, как это описано, приводит к незначительному повышению, или отсутствию повышения, или значительному изменению уровней apoB в крови, плазме крови или сыворотке крови. В одном варианте осуществления любое оцениваемое повышение уровней маркеров LDL или LDL-C компенсируется снижением, или незначительным повышением, или отсутствием повышения уровней apoB. В одном варианте осуществления снижение уровней маркера является дозозависимым. В других вариантах осуществления способов введение MEDI6012 в дозах и в соответствии с описанными в данном документе схемами введения доз обеспечивает кардио- и/или атеропротективный эффект у субъекта, подвергаемого лечению, например, путем уменьшения апоптоза кардиомиоцитов, снижения уровней холестерина, ассоциированного с HDL невысокой плотности, в сыворотке крови, вызывая расщепление или удаление избыточного холестерина или LDL-C из тканей и организма.

В примере 2 в данном документе описано клиническое исследование MAD, проведенное для оценки многократного введения в нарастающих парентеральных дозах фермента rhLCAT MEDI6012 пациентам со стабильным атеросклеротическим CVD. Дозы MEDI6012 вводили внутривенно субъектам. Результаты исследований MAD, в которых повторные дозы MEDI6012 вводили субъектам, продемонстрировали, что скорость повышения HDL-C и/или apoA1 была дозозависимой, обеспечивая таким образом лечебные и протективные эффекты, ассоциированные с данными способами.

Другие способы лечения, включающие введение rhLCAT (MEDI6012)

Настоящее изобретение охватывает способ, в котором дозу rhLCAT или MEDI6012 преимущественно предоставляют пациенту, у которого имеется сердечное состояние, патология или заболевание, сразу после поступления пациента в больницу, отделение неотложной помощи, клинику, учреждение неотложной медицинской помощи, кабинет врача и т. п. В соответствии с практическим осуществлением способов по настоящему изобретению предоставление пациенту доз MEDI6012 и схем введения доз, включающих введение MEDI6012, как это описано в данном документе, благоприятно повышает уровни HDL-C и/или apoA1 в сыворотке крови у пациента и не оказывает нежелательного воздействия на уровни apoB в сыворотке у пациента, за счет чего обеспечиваются

быстрые миокардиопротективные и атеропротективные эффекты, которые также сохраняются со временем, например, в течение недель. Это особенно эффективно в том случае, когда схемы введения доз, включающие последующие дозы MEDI6012, например поддерживающие дозы, предоставляются пациенту после введения первой дозы MEDI6012, или когда схема введения доз включает введение первой нагрузочной дозы MEDI6012, например болюсной дозы, путем в/в струйного введения с последующими дозами, например поддерживающими дозами, MEDI6012, вводимыми после этого субъекту, как это описано в данном документе.

В другом аспекте настоящего изобретения представлен способ повышения уровней или количеств одного или нескольких фармакодинамических (PD) маркеров, выбранных из HDL-C, CE, HDL-CE и/или apoA1, и/или уменьшения, или незначительного изменения, или отсутствия изменения уровня apoB, и/или уменьшения количества малых атерогенных частиц LDL у субъекта, страдающего от острого или хронического заболевания сердца, сердечно-сосудистого заболевания, заболевания коронарных артерий (CAD), стабильного CAD, атеросклероза, атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания (CVD), стабильного CVD, нестабильного CVD, острого коронарного синдрома (ACS), сердечной недостаточности (HF), застойной HF, HF с госпитализацией, сердечной недостаточности со сниженной фракцией выброса (EF), сердечной недостаточности с сохраненной EF, инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI), инфаркта миокарда без подъема сегмента ST (non-STEMI) или заболевания, патологии или состояния, связанных или ассоциированных с сердцем или заболеванием сердца, с наследственной предрасположенностью или приобретенные, таких как инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, ишемическая кардиомиопатия, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы. Способ включает введение субъекту дозы MEDI6012 (rhLCAT) в количестве, эффективном для того, чтобы вызвать повышение, снижение, или незначительное изменение, или отсутствие изменений вышеупомянутых PD-маркеров. В ряде вариантов осуществления способ включает внутривенное или подкожное введение субъекту одной или нескольких доз MEDI6012, как, например, 24, 80, 240, 300, 600 или 800 мг. В одном варианте осуществления по меньшей мере одну дозу 80, 240, 300 или 800 мг MEDI6012 вводят внутривенно субъекту в течение периода времени, составляющего от 30 минут до 1 часа. В конкретном варианте осуществления период

времени внутривенного введения дозы MEDI6012 составляет 1 час. В другом варианте осуществления по меньшей мере одну дозу 80 или 600 мг MEDI6012 вводят субъекту путем п/к инъекции. В других вариантах осуществления способ включает внутривенное введение субъекту многократных или повторных доз MEDI6012, например, двух, трех или шести доз MEDI6012. В конкретном варианте осуществления способа первая доза MEDI6012 представляет собой нагрузочную дозу, которую вводят в количестве 200–500 мг или более конкретно в количестве 300 мг с последующими одной или двумя дозами MEDI6012 (поддерживающими дозами), которые затем вводят с регулярными интервалами, как это описано в данном документе. В одном варианте осуществления нагрузочную дозу вводят путем в/в струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–5 минут или равного ему, или составляющего приблизительно 1–3 минуты или равного ему, или составляющего приблизительно 1–2 минуты или равного ему.

В другом аспекте настоящего изобретения представлен способ обеспечения защиты миокарда у субъекта с острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI), в котором дозы MEDI6012, вводимые субъекту в соответствии с дозами и схемами введения доз, описанными в данном документе, повышают уровни HDL-C и/или HDL-CE для системного и внутриклеточного поступления частиц HDL и/или apoA1, что таким образом приводит к снижению апоптотических явлений в миокардиоцитах.

Варианты комбинированного лечения

В другом варианте осуществления фермент rhLCAT или MEDI6012 можно вводить в сочетании с другим лекарственным средством, лекарственным препаратом, или терапевтическим средством, или соединением. В ряде вариантов осуществления rhLCAT или MEDI6012 вводят в сочетании с лекарственным препаратом из группы статинов, ингибитором фермента пропротеин конвертазы субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9) (PCSK9i), другими гипохолестеринемическими лекарственными средствами и лекарственными препаратами, сердечными лекарственными препаратами и т. п. При такой комбинированной терапии rhLCAT или MEDI6012 и другое лекарственное средство, лекарственный препарат и т. д. можно вводить вместе или по отдельности, одновременно, последовательно или в разное время. Кроме того, другие лекарственные средства или лекарственные препараты можно вводить субъекту одновременно или в моменты времени, отличны от времени введения rhLCAT или MEDI6012. Без ограничения статины, которые можно вводить, включают аторвастатин (LIPITOR), флувастатин (LESCOL),

ловастатин (MEVACOR, ALTOPREV), питавастатин (LIVALO), правастатин (PRAVACHOL), розувастатин (CRESTOR) и симвастатин (ZOCOR), эволокумаб (REPATHA[®]) или алирокумаб (PRALUENT[®]). Другие гипохолестеринемические лекарственные средства и лекарственные препараты, снижающие уровень холестерина, могут включать фенофибрат (фенофибриновую кислоту (холин)), холестирамин (QUESTRAN), холестирамин лайт, колестипол, ниацин, сло-ниацин, ниаспан, кадуэт, превалит, антару, виторин 10-80, колестид, гемфиброзил, ингибиторы абсорбции холестерина, такие как эзетимиб (ZETIA) и эзетимиб-симвастатин, триглид, пралуент, липофен, репату, фибрикор, велхол, алирокумаб и эволокумаб.

Синергический эффект комбинации терапевтических средств (например, комбинации rhLCAT или MEDI6012 и другого кардиотерапевтического и/или гипохолестеринемического лекарственного средства) может обеспечить возможность применения более низких дозировок одного или нескольких терапевтических средств и/или менее частых введений терапевтических средств субъекту с заболеванием сердца, ишемической болезнью сердца и/или заболеванием коронарных артерий. Возможность использовать более низкие дозировки терапевтических средств и/или вводить такие терапевтические средства менее часто может снизить любую потенциальную токсичность, связанную с введением терапевтических средств субъекту, без снижения эффективности терапевтических средств при лечении заболевания сердца или ишемической болезни сердца. Кроме того, синергический эффект может приводить к повышению эффективности терапевтических средств в контроле, лечении или уменьшении тяжести заболевания сердца или ишемической болезни сердца. Синергический эффект комбинации терапевтических средств может позволить избежать или уменьшить неблагоприятные или нежелательные побочные эффекты, связанные с использованием каждого терапевтического средства по отдельности (в виде монотерапии), например, в более высокой дозе.

При совместной терапии LCAT или MEDI6012 могут быть необязательно включены в одну и ту же фармацевтическую композицию, что и другое лекарственное средство или лекарственный препарат. Альтернативно LCAT или MEDI6012 могут быть в отдельной фармацевтической композиции и могут вводиться одновременно или в разное время относительно одного или нескольких других лекарственных средств или лекарственных препаратов. LCAT или MEDI6012 или фармацевтическая композиция, содержащая LCAT или MEDI6012, являются подходящими для введения до,

одновременно с или после введения другого лекарственного средства или лекарственного препарата или фармацевтической композиции, содержащей лекарственное средство или лекарственный препарат. В некоторых случаях введение MEDI6012 субъекту перекрывается со временем введения другого или сопутствующего лекарственного средства или лекарственного препарата, предоставляемого отдельно или в отдельной композиции.

Фармацевтические композиции и составы

Настоящее изобретение охватывает использование фармацевтических композиций и составов, содержащих фермент LCAT или MEDI6012 и один или несколько фармацевтически приемлемых вспомогательных средств, носителей и/или разбавителей. В определенных вариантах осуществления композиции могут содержать одно или несколько других биологически активных средств (например, ингибиторы протеаз).

Неограничивающие примеры вспомогательных средств, носителей и разбавителей включают среды-носители, жидкости, буферы, изотонические средства, добавки, стабилизаторы, консерванты, солюбилизаторы, поверхностно-активные вещества, эмульгаторы, смачивающие средства, вспомогательные вещества и т. д. Композиции могут содержать жидкости (например, воду, этанол); разбавители с различным содержанием буфера (например, Tris-HCl, фосфатный, ацетатный буферы, цитратные буферы), pH и ионной силой; детергенты и солюбилизирующие средства (например, полисорбат 20, полисорбат 80); антиоксиданты (например, метионин, аскорбиновую кислоту, метабисульфит натрия); консерванты (например, тимеросал, бензиловый спирт, м-крезол) и объемобразующие вещества (например, лактозу, маннит, сахарозу). Использование вспомогательных средств, разбавителей и носителей в составе фармацевтических композиций известно в данной области техники, см., например, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition, pages 1435-1712, Mack Publishing Co. (Easton, Pennsylvania (1990)), который включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

В качестве неограничивающего примера носители могут включать разбавители, среды-носители и вспомогательные вещества, а также носители для имплантатов и инертные нетоксичные твердые или жидкие наполнители и инкапсулирующие материалы, которые не реагируют с активным (активными) ингредиентом (ингредиентами). Неограничивающие примеры носителей включают фосфатно-буферный солевой раствор, физиологический солевой раствор, воду и эмульсии (например, эмульсии типа

масло/вода). Носитель может представлять собой растворитель или диспергирующую среду, содержащие, например, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль и т. п.), растительное масло и их смеси.

Составы, содержащие LCAT или MEDI6012, предназначенные для парентерального введения, могут быть получены, например, в виде жидких растворов или суспензий, в виде твердых форм, подходящих для солюбилизации или суспендирования в жидкой среде перед инъекцией, или в виде эмульсий. Стерильные инъекционные растворы и суспензии могут быть составлены в соответствии с методиками, известными в данной области техники, с использованием подходящих разбавителей, носителей, растворителей (например, забуференного водного раствора, раствора Рингера, изотонического раствора хлорида натрия), диспергирующих средств, смачивающих средств, эмульгирующих средств, суспендирующих средств и т. п. Также могут быть использованы стерильные нелетучие масла, сложные эфиры жирных кислот, полиолы и/или другие неактивные ингредиенты. Кроме того, составы для парентерального введения могут включать водные стерильные инъекционные растворы, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостатические средства и растворенные вещества, которые делают состав изотоническим по отношению к крови предполагаемого субъекта, а также водные и неводные стерильные суспензии, которые могут содержать суспендирующие средства и загустители.

Способы введения

В дополнение к схемам введения доз, описанным в данном документе, rhLCAT или MEDI6012 или фармацевтические композиции или составы, содержащие rhLCAT или MEDI6012, можно вводить субъектам посредством способов и путей, которые подходят для введения и/или доставки субъекту биологического лекарственного средства, такого как белок. Как правило, подходящие способы биологической доставки или введения включают способы или пути парентерального введения. Такие способы доставки включают без ограничения подкожную (п/к) доставку, подкожную инъекцию или инфузию, внутривенную (в/в) доставку, например, внутривенную инфузию или инъекцию или в/в струйное введение. Другие способы или схемы доставки и введения могут включать без ограничения внутрисуставные, внутриартериальные, интраперитонеальные, внутримышечные, внутрикожные, ректальные, трансдермальные или интратекальные. В конкретных вариантах осуществления MEDI6012 или rhLCAT вводят субъекту путем внутривенного введения, например, путем в/в струйного введения или в/в инфузии. В

другом конкретном варианте осуществления MEDI6012 или rhLCAT вводят субъекту путем подкожной инъекции, такой как однократная подкожная инъекция.

Рекомбинантный LCAT человека (rhLCAT) или MEDI6012 можно вводить в схеме длительного лечения. Рекомбинантный LCAT человека (rhLCAT) или MEDI6012 можно вводить в течение определенного периода времени, описанного в данном документе, после которого следует период без лечения. Схему введения доз или цикл также можно повторять. В некоторых вариантах осуществления лечение (например, введение LCAT, MEDI6012 или rhLCAT) включает введение нагрузочной дозы в качестве первого лечения с последующей второй дозой и/или одной или несколькими последующими поддерживающими дозами, например, в течение периода времени, предусматривающего несколько дней, например, в день 1, день 3 и день 10 после первой или нагрузочной дозы. Последующие или поддерживающие дозы могут вводиться с недельными интервалами, например в 1 неделю, 2 недели, 3 недели, или больше, например, в 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель, 10 недель, 11 недель, 12 недель, или с месячным интервалом, или с более длительными интервалами, такими как годы, после начальной, второй или последующих доз.

Также предполагается, что MEDI6012 или rhLCAT можно вводить путем прямой доставки, например, посредством инфузии или инъекции в участок заболевания или рядом с ним, насколько это практически осуществимо. Также предполагается, что MEDI6012 или rhLCAT можно вводить путем имплантации в виде депо в целевом участке действия, например, с помощью сердечного катетера или стента. Альтернативные способы введения или доставки rhLCAT или MEDI6012 могут включать сублингвальную доставку под язык (например, посредством сублингвальной таблетки), ингаляцию (например, посредством ингалятора или аэрозольного баллончика), интраназальную доставку или трансдермальную доставку (например, посредством пластыря на кожу). MEDI6012 или rhLCAT также можно вводить перорально, если они представлены в подходящей форме, например, в микросферах, микрокапсулах, липосомах (незаряженных или заряженных (например, катионных)), полимерных микрочастицах (например, полиамидах, полилактидах, полигликолидах, поли(лактид-гликолидах)), микроэмульсиях и т. д. Кроме того, введение может осуществляться с помощью осмотического насоса (например, насоса Alzet) или мини-насоса (например, мини-осмотического насоса Alzet), позволяющих осуществлять контролируемую, непрерывную и/или доставку с медленным высвобождением MEDI6012 или rhLCAT или их фармацевтической композиции в течение

предварительно заданного периода. Осмотический насос или мини-насос также могут быть имплантированы подкожно в целевой участок или рядом с ним.

Настоящее изобретение охватывает, если не указано иное, общепринятые методики молекулярной биологии (включая любые рекомбинантные методики), микробиологии, биологии клетки, биохимии и иммунологии, которые находятся в компетенции специалиста в данной области техники. Такие методики в полном объеме поясняются в литературе, такой как: "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", second edition (Sambrook, 1989); "Oligonucleotide Synthesis" (Gait, 1984); "Animal Cell Culture" (Freshney, 1987); "Methods in Enzymology" "Handbook of Experimental Immunology" (Weir, 1996); "Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells" (Miller and Calos, 1987); "Current Protocols in Molecular Biology" (Ausubel, 1987); "PCR: The Polymerase Chain Reaction", (Mullis, 1994); "Current Protocols in Immunology" (Coligan, 1991). Данные методики применимы для получения полинуклеотидов и полипептидов LCAT, как это описано в данном документе, и, как таковые, они могут учитываться при осуществлении и применении настоящего изобретения.

Следующие примеры изложены для того, чтобы предоставить специалистам в данной области техники полное раскрытие и описание того, как осуществлять и применять терапевтические способы по настоящему изобретению, и они не предполагают ограничение объема того, что авторы настоящего изобретения рассматривают в качестве своего изобретения.

ПРИМЕРЫ

Пример 1 – исследования с однократным введением в нарастающих дозах (SAD) MEDI6012 у пациентов со стабильным заболеванием коронарных артерий (CAD)

Обзор дизайна исследования

Проводили рандомизированное двойное слепое (субъект/исследователь ослеплены; спонсор не ослеплен) плацебо-контролируемое исследование фазы 2а с повышением дозы для оценки безопасности, РК/PD и иммуногенности однократной внутривенной (в/в и в/в инфузии) и подкожной дозы MEDI6012 у взрослых субъектов со стабильным заболеванием коронарных артерий (CAD). В общей сложности 48 субъектов в 10 исследовательских центрах в Соединенных Штатах Америки включили в исследование для оценки следующих 4 уровней доз (когорты) MEDI6012 посредством в/в введения: 24 мг, 80 мг, 240 мг и 800 мг (когорты 1–4); и следующие 2 уровня доз (когорты) MEDI6012,

вводимых посредством п/к инъекции: 80 мг и 600 мг, обозначенные на фиг. 1 как когорты 6 и 7. В каждой когорте 8 субъектов рандомизировали в соотношении 6:2 для получения MEDI6012 или плацебо. В данном исследовании в когортах с в/в введением доз MEDI6012 в качестве исследуемого продукта вводили в виде 1-часовой в/в инфузии. Для п/к введения MEDI6012 в качестве исследуемого продукта вводили с использованием одноразовых шприцев, объем которых составлял не более 1 мл. Субъектов подвергали скринингу продолжительностью до 28 дней (если требовалось выведение сопутствующего лекарственного препарата, то для таких субъектов разрешали период скрининга продолжительностью до 42 дней). Субъекты поступали в исследовательский центр вечером перед рандомизацией и введением дозы (день -1) и оставались в исследовательском центре до 7 дней после введения дозы исследуемого продукта (день 8). Обследование субъектов проводили через 28 дней после получения дозы исследуемого продукта (визит в день 29). Субъектов призывали вести здоровый образ жизни, включая диету и физические упражнения, в течение периода исследования.

Статистический анализ

Размер выборки: целевой популяцией субъектов для исследований SAD были взрослые мужчины или женщины в возрасте от 40 до 75 лет с задокументированным стабильным САД в анамнезе. В общей сложности проводили обследование 48 субъектов: В каждой когорте было 8 субъектов, рандомизированных в соотношении 6:2 для получения MEDI6012 или плацебо. Размер выборки для данного исследования с однократным введением в нарастающих дозах определяли эмпирически так, чтобы обеспечить адекватные данные о безопасности, переносимости и РК/PD для достижения целей исследования. Восемь субъектов получали плацебо посредством в/в введения, и 4 субъекта получали плацебо посредством п/к введения. Предполагая общее стандартное отклонение 280 и двухсторонний уровень значимости 0,05, текущие размеры выборки обеспечивали > 99% мощности для выявления разницы 1300 мг час/дл между каждой группой субъектов, получающих MEDI6012, по сравнению с плацебо с тем же путем введения для скорректированной относительно исходного уровня AUC_{0-96h} HDL-C.

PD-параметр, представляющий главный интерес, представлял собой скорректированную относительно исходного уровня площадь под кривой зависимости «концентрация-время» (AUC) от 0 до 96 часов (AUC_{0-96ч}) для HDL-C. AUC рассчитывали с применением правила трапеций. Статистическое сравнение между группами лечения с объединенной группой плацебо проводили с использованием ковариационного анализа

(ANCOVA) путем корректировки относительно HDL-C исходного уровня и группы лечения. Другие конечные точки, включая $AUC_{0-168ч}$, а также $AUC_{0-96ч}$ для HDL-C, TC, FC, CE, HDL-CE, HDL-UC, non-HDL-C, non-HDL-CE, non-HDL-UC, LDL-C (прямое измерение с помощью стандартного лабораторного теста) и apoB для каждой из них анализировали аналогично основной PD-конечной точке.

Изменение и процентное изменение от исходного уровня в каждый момент времени для каждого из указанных выше липидов, липопротеинов и аполипопротеинов, а также VLDL-C, TG, пре β 1-HDL, apoAI, apoAII, apoCIII и apoE анализировали и сравнивали с использованием ANCOVA путем корректировки относительно исходного уровня и группы лечения с объединенной группой плацебо. Описательная статистика предоставлялась по группе лечения для максимального ответа, а также времени максимального ответа для каждого из них. Частоту и титр ADA сводили в таблицу для каждой группы лечения. Образцы с положительным результатом по ADA тестировали и анализировали в отношении титра нейтрализующего антитела (nAb) и обобщали аналогично. Некомпаратментный анализ проводили у субъектов, получавших MEDI6012. Профили зависимости «время-активная концентрация и масса MEDI6012» суммировали по когорте дозы. Представленные PK-параметры включали C_{max} , T_{max} , AUC, биодоступность при подкожном введении и период полувыведения в конечной фазе ($t_{1/2}$).

Основные и вторичные цели исследования

Основной целью исследования безопасности была оценка безопасности MEDI6012 после введения однократных нарастающих доз у пациентов со стабильным САД. Основной фармакодинамической (PD) целью было измерение дозозависимого эффекта для HDL-C после введения MEDI6012. Конечная точка для основной PD-цели включала откорректированную относительно исходного уровня площадь под кривой от 0 до 96 часов ($AUC_{0-96ч}$) после введения дозы HDL-C. Вторичные цели включали измерение дозозависимого эффекта для других ключевых PD-биомаркеров после введения MEDI6012; определение PK-профиля MEDI6012, вводимого в/в и п/к; определение взаимосвязи между MEDI6012 и субстратом пре β 1-HDL; и оценку потенциала иммуногенности MEDI6012. Конечные точки для вторичных целей включали оценку концентрации в сыворотке крови других ключевых липидов, липопротеинов и аполипопротеинов: общего холестерина (TC), свободного холестерина (FC), сложных эфиров холестерина (CE), сложных эфиров холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-CE), неэтерифицированного холестерина липопротеинов высокой

плотности (HDL-UC), non-HDL-C, non-HDL-CE, non-HDL-UC, LDL-C (прямое измерение), холестерина липопротеинов очень низкой плотности (VLDL-C), триглицеридов (TG), аполипопротеина В (apoB), аполипопротеина А1 (apoA1), аполипопротеина АII (apoAII), аполипопротеина СIII (apoCIII) и аполипопротеина Е (apoE); измерение концентрации в сыворотке крови для массы MEDI6012; оценка частиц Pre β 1-HDL; и титры ADA и nAb.

Эксплоративные цели включали исследование размера липопротеинов и количества частиц; проверку уровней LDL-C с использованием альтернативных методологий; и оценку влияния MEDI6012 на способность плазмы крови субъектов, подвергаемых лечению, поддерживать отток холестерина. Конечные точки эксплоративных целей включали измерение концентрации в сыворотке крови активного MEDI6012; размера и количества частиц HDL, LDL и VLDL; измерение LDL-C посредством ультрацентрифугирования (β -количественного) и уравнения Фридвальда; и определение общего оттока холестерина с помощью анализа этерификационной активности LCAT в HDL с использованием известных протоколов, таких как описаны в Shamburek, R.D. et al., 2016, *Circulation Research*, 118:73-82; doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306223, 2015.

Исследуемая популяция

Исследуемая популяция состояла из взрослых с задокументированным САД, которое было клинически стабильным. Данная популяция достигла наилучшего баланса для обеспечения безопасности, РК- и PD-оценки MEDI6012 у субъектов с установленным атеросклерозом, целевой популяции для последующего клинического исследования, но которые были клинически стабильны (более низкий риск безопасности) с меньшими колебаниями уровней биомаркеров для обеспечения надежных РК/PD-заключений. Субъектов с нестабильным САД, а также с нестабильной или прогрессирующей стенокардией исключали. Здоровую популяцию субъектов не включали в данное исследование. Использование пациентов со стабильным САД в данном исследовании позволило получить данные о липидном профиле у пациентов с липидными профилями, которые с большей вероятностью соответствовали популяции с ACS, чем здоровой популяции субъектов. Кроме того, в предыдущих исследованиях или в доклинических исследованиях MEDI6012 не выявили каких-либо сообщений о проблеме безопасности, позволяющих предположить проблему с безопасностью при оценке введения MEDI6012 в однократной дозе у пациентов со стабильным САД.

Субъекты должны были соблюдать постоянный режим приема статинов в качестве стандартной терапии (SoC) с уровнями LDL-C ≤ 150 мг/дл при скрининге, чтобы избежать включения в исследование субъектов с генетически низкой концентрацией рецепторов LDL (и, следовательно, высоким или очень высоким исходным уровнем LDL-C) и обеспечить более однородную популяцию, по которой можно оценивать изменения представляющих интерес липидов/липопротеинов. Аналогично субъектов с высокими исходными значениями HDL-C (> 60 мг/дл для мужчин, > 65 мг/дл для женщин) исключали для обеспечения однородности среди испытуемых в отношении восходящего движения уровней HDL-C, что облегчало выбор дозы.

Обоснование основных конечных точек, ключевых PD-конечных точек, PK-конечных точек и конечных точек иммуногенности

Основной PD-конечной точкой был HDL-C, который анализировали как скорректированную относительно исходного уровня $AUC_{0-96ч}$. Поскольку HDL является субстратом для gHLCAT, ожидали, что эффективность MEDI6012 будет коррелировать с изменениями уровней HDL-C. Это подтверждается результатами токсикологического исследования MEDI6012 на макаках-крабоедах (нормальные животные с интактным эндогенным gHLCAT и высокими уровнями HDL-C), которое показало значительное и кратковременное повышение уровня HDL-C после инфузии MEDI6012. HDL-C является более постоянной/менее вариабельной конечной точкой анализа, чем CE; таким образом, CE выбрали в качестве вторичной PD-конечной точки для исследования.

Липопротеины и компоненты липидной панели выбрали потому, что изменение уровней этих маркеров в результате введения доз MEDI6012 предоставило подтверждающие доказательства повышенной активности в системе RCT. TC представляет собой сумму неэтерифицированного и этерифицированного холестерина на всех липопротеинах плазмы крови. HDL-C представляет собой количество холестерина, присутствующего в частицах HDL, которое можно дополнительно классифицировать на фракции HDL-UC и HDL-CE. Ожидалось, что, благодаря своей ферментативной активности, MEDI6012 приведет к повышению HDL-C, основного PD-биомаркера. Уровни TC, CE и LDL-C являются маркерами, которые позволяют дополнительно оценить влияние gHLCAT на RCT, поэтому их определили как вторичные PD-конечные точки.

Концентрацию LCAT (массу) в сыворотке крови использовали для характеристики воздействия MEDI6012 и связанных токсикологических воздействий. PK также могли использовать для обнаружения взаимосвязей доза-воздействие-PD-ответ для помощи в

обоснованном выборе дозы для будущих клинических испытаний. Активность LCAT в плазме крови предоставила альтернативную меру массы LCAT при установлении взаимосвязи между РК и PD для MEDI6012 в популяции со стабильным САД.

Образование ADA к MEDI6012 потенциально могло повлиять на безопасность, РК и/или PD MEDI6012 и/или эндогенного LCAT. Оценивали потенциал ADA в отношении данного соединения, и также характеризовали образование любого nAb.

Обоснование эксплоративных PD-конечных точек

Размер частиц липопротеинов и количество частиц: пре β 1-HDL (первая частица HDL, вовлеченная в RCT) представляет собой небольшую дисковидную частицу с низким содержанием липидов, которая принимает холестерин в периферических клетках посредством связывания ABCA1 с apoA1. Полученный комплекс затем превращается в более крупную частицу, пре β 2-HDL, путем включения дополнительного холестерина. Холестерин этерифицируется за счет действия LCAT, который превращает частицу в более крупную сферическую частицу α 3-HDL, которая затем преобразуется в α 2-HDL, а затем в α 1-HDL, когда она принимает больше холестерина. Считается, что реакция этерификации помогает поддерживать градиент концентрации, который управляет движением холестерина к HDL, увеличивая тем самым способность HDL принимать больше холестерина (Fielding et al, 1995a, *Journal of Lipid Research*, 36(2):211-28). CE в зрелых HDL удаляется либо путем прямого избирательного захвата печенью (второстепенный путь), либо путем переноса в apoB-содержащие липопротеины посредством CETP; затем apoB-содержащие липопротеины подвергаются клиренсу через печеночный путь рецептора липопротеинов низкой плотности (LDLr) (основной путь). Ожидалось, что перенос CE в apoB-содержащие липопротеины с последующим созреванием более крупных частиц LDL с большим содержанием холестерина будет способствовать захвату через LDLr. Важно, что это происходит без увеличения количества частиц. Отток FC из клеток, этерификация FC с помощью LCAT и захват CE печенью в совокупности являются важной первой стадией в RCT (Fielding et al, 1995b, *Biochemistry*, 34(44):14288-92; Miller, 1990, *Baillieres Clin Endocrinol Metab.*, 4(4):807-32; Tall et al, 2008, *Cell Metab.*, 7(5):365-75). Конечные точки, указанные в протоколе, выбирали для предоставления информации о воздействии MEDI6012 *in vivo* на созревание HDL и для понимания механизма его действия.

Проверка LDL-C с помощью ультрацентрифугирования: Turner et al. (2015. https://www.medpace.com/PDF/Posters/PosterD1_MRL-2015.pdf) сравнили рассчитанный

LDL-C (с помощью уравнения Фридвальда), прямой/гомогенный анализ LDL-C (прямое измерение с помощью стандартного лабораторного теста) и "золотой стандарт" – анализ с помощью препаративного ультрацентрифугирования (β -количественного). Формулы для расчета LDL-C и "прямого" измерения LDL-C показали значительные и клинически значимые различия, когда истинный уровень LDL-C был < 70 мг/дл, и даже умеренное повышение триглицеридов оказало значительное влияние на измерения. Поэтому "золотой стандарт" в виде метода ультрацентрифугирования (исследовательского) включили в данное исследование для обеспечения сравнения прямого LDL-C (вторичный показатель) и расчетного LDL-C для способствования выбору оптимального измерения LDL-C для механизма LCAT и популяции пациентов.

Анализ оттока холестерина и этерификации с помощью LCAT: данные новые биомаркеры повышенной активности RCT и HDL (выходящие за рамки изменений в HDL-C и размере частиц) измеряют способность MEDI6012 повышать отток холестерина из периферических тканей.

Материалы и методы

Исследуемый продукт/лекарственный продукт: MEDI6012, исследуемый продукт/лекарственный продукт, вводимый в описанных в данном документе исследованиях и способах, был изготовлен MedImmune, LLC и поставлялся в виде лиофилизированного порошка (100 мг на мл после восстановления стерильной водой для инъекций) в буфере, содержащем 10 мМ фосфата натрия, 300 мМ сахарозы, 0,06% веса по объему (вес/объем) полоксамера-188 при pH 7,2. MEDI6012 получали в виде стерильного лиофилизированного порошка цветом от белого до грязно-белого (50 мг/флакон, номинальный). После растворения в 0,6 мл стерильной воды для инъекций (sWFI) MEDI6012 представляет собой раствор цветом от бесцветного до желтого.

Плацебо, использованное в исследованиях, было изготовлено MedImmune, LLC и поставлялось в виде 10 мл раствора, содержащего 10 мМ фосфата натрия, 300 мМ сахарозы, 0,06% (вес/объем) полоксамера-188 при pH 7,2. Плацебо получали в виде стерильного бесцветного или слегка желтого раствора.

В дополнение к исследуемому продукту поставлялся раствор вещества-протектора, добавляемого в пакет для внутривенного введения (IVBP), для предотвращения адсорбции продукта MEDI6012 к системе для в/в инфузий. IVBP хранили при 2–8°C (36–46°F). IVBP поставляли для использования в виде 10 мл раствора, содержащего 10 мМ фосфата натрия, 300 мМ сахарозы, 0,06% (вес/объем) полоксамера-188 при pH 7,2. IVBP

поставляли во флаконах 10R в виде бесцветной или слегка желтой, от прозрачной до слегка опалесцирующей жидкости. Лиофилизированный MEDI6012 не восстанавливали раствором IVBP.

В/в введение: каждую в/в дозу вводили субъектам в виде смеси восстановленного MEDI6012 и IVBP или плацебо плюс IVBP в пакете для в/в введения с 0,9% солевым раствором. IVBP использовали только для в/в доз. Для всех когорт в/в введения IVBP использовали для предварительного кондиционирования пакета для в/в введения перед добавлением дозы лекарственного средства MEDI6012 или плацебо. Для каждой дозы проверяли флаконы с лиофилизированным лекарственным средством MEDI6012, флаконы с жидким плацебо, флаконы с жидким IVBP и добавляли 0,9% (вес по объему, вес/объем) физиологический раствор в пакет для в/в введения перед приготовлением дозы активного лекарственного продукта или дозы плацебо. Для групп с активным лекарственным продуктом восстанавливали только необходимое количество флаконов на дозу MEDI6012.

Несовместимость между MEDI6012 и изделиями из пластмасс (пакетами из полиолефина без ди-2-этилгексилфталата (DEHP) и полипропиленовыми шприцами) при использовании в сочетании с IVBP не наблюдали. Удлинительные магистрали из полиэтилена/поливинилхлорида (PE/PVC) и PVC без DEHP были приемлемыми. Магистрали содержали встроенный фильтр 0,22 или 0,2 мкм. Встроенный фильтр обычно изготавливали из полиэфирсульфона (PES). Магистрали, содержащие фильтры на основе целлюлозы, не использовали с MEDI6012, поскольку они не были протестированы.

Продукт MEDI6012, плацебо и IVBP не содержали консервантов; следовательно, любое неиспользованное количество утилизировал. Общее время хранения при использовании после прокола иглой первого (первых) флакона (флаконов) с исследуемым продуктом до начала в/в введения не должно превышать 4 часа при комнатной температуре или 24 часа при температуре от 2°C до 8°C (от 36°F до 46°F). Если время хранения выходило за эти рамки, готовили новую дозу из нового (новых) флакона (флаконов) с исследуемым продуктом и флакона с IVBP. Если приготовленную дозу хранили при температуре от 2°C до 8°C (от 36°F до 46°F), то перед внутривенным введением флакон уравнивали до комнатной температуры и проверяли, чтобы убедиться в прозрачности раствора MEDI6012, подлежащего введению в дозах.

П/к введение: каждую подкожную дозу вводили в виде восстановленного MEDI6012 или плацебо. Несовместимость между MEDI6012 и поликарбонатными/полипропиленовыми шприцами, использованными для п/к введения,

не наблюдали. Лекарственное средство MEDI6012 и плацебо не содержали консервантов, поэтому любое неиспользованное количество утилизировали. Общее время хранения при использовании после прокола иглой первого (первых) флакона (флаконов) с исследуемым продуктом до начала п/к введения не превышал 4 часов при комнатной температуре. Если время хранения выходило за эти рамки, готовили новую дозу для п/к введения из нового (новых) флакона (флаконов).

Приготовление и назначение MEDI6012 или плацебо для в/в введения: смесь для доз от 24 мг до 1600 мг готовили в 50 мл полиолефиновом пакете для в/в введения с 0,9% солевым раствором, содержащем IVBP, с использованием одностадийного разбавления. Хотя дозу 1600 мг и предлагали для тестирования в исследовании, эту дозу не проверяли на субъектах по причине эффективности, выявленной при использовании более низких доз rhLCAT или MEDI6012. Полученную дозу доставляли с использованием PVC (без DEHP) набора для в/в введения с PES-фильтром 0,22 или 0,2 мкм. Для в/в введения путем в/в инфузии присоединяли составляющие компоненты для введения пакета для внутривенного введения, в том числе фильтр, и магистраль для введения заполняли непосредственно перед инфузией. Дозу MEDI6012 вводили в виде внутривенной инфузии в течение примерно 60 минут (\pm 5 минут). После полной инфузии содержимого пакета для в/в введения осуществляли промывку комплекта для в/в введения путем добавления до 30 мл 0,9% солевого раствора (или эквивалента, соответствующего остаточному объему удлинительной магистрали) в пакет для в/в введения, чтобы гарантировать, что полная доза MEDI6012 была доставлена.

Приготовление и назначение MEDI6012 или плацебо для п/к введения: каждая подкожная (п/к) доза MEDI6012 представляла собой инъекцию, доставляемую посредством шприца. Лекарственным средством MEDI6012 или плацебо могли наполнять шприц соответствующего размера (поликарбонатный/полипропиленовый) или стерильный стеклянный флакон (например, 10 мл) и вводить в зависимости от доставляемого объема. Дозу доставляли с использованием инъекционной иглы 27 G, 0,5 дюйма. Кроме того, IVBP не использовали при приготовлении доз для п/к введения.

Лечение и контроль введения дозы

В данном исследовании день введения MEDI6012 считался днем 1. В день введения дозы после ночного голодания субъекта в течение минимум 6 часов исследуемый продукт MEDI6012 вводили как можно скорее после пробуждения субъекта. В случае в/в инфузии продукт MEDI6012 вводили в течение периода, составляющего примерно 60 минут (\pm 5

минут). В случае п/к инъекции продукт MEDI6012 вводили в нижнюю часть брюшной стенки, используя иглу 27 G, 0,5 дюйма. В тех случаях, когда для введения дозы лекарственного препарата требовалось несколько инъекций, использовали отдельные участки для инъекции. Отдельные инъекции осуществляли в брюшную стенку и на расстоянии по меньшей мере 3 см друг от друга. Для субъектов, которые также принимали инсулин или другие сопутствующие лекарственные средства посредством п/к введения, инъекцию данных лекарственных препаратов проводили в месте, отличном от места введения лекарственного средства MEDI6012. Поверхность кожи живота подготавливали с помощью спиртовой салфетки и позволяли высохнуть на воздухе.

Кожу собирали в складку, чтобы изолировать п/к ткань от мышц. Иглу вводили под углом 90 градусов примерно на половину толщины п/к ткани. Исследуемый продукт MEDI6012 медленно вводили (рекомендовалось по меньшей мере 5-секундное введение для 1 мл шприца) в подкожную ткань, прикладывая легкое усилие. После инъекции участок не массировали.

Проводили оценки показателей жизнедеятельности, ЭКГ и телеметрию (для в/в введения) до и после введения дозы. Как и в случае любого экзогенного белка, могут иметь место аллергические реакции на введение дозы. Таким образом, соответствующие лекарственные препараты и медицинское оборудование для лечения острых анафилактических реакций были доступны для использования в неотложном порядке, и персонал, задействованный в исследовании, был обучен распознавать и лечить анафилаксию.

В течение периода исследования субъекты продолжали принимать назначенную им терапию статинами в своей обычной предписанной дозе, а также любые другие лекарственные препараты, например лекарственные препараты для коррекции артериального давления или сердечные лекарственные препараты, назначенные для их заболевания, такого как САД.

Методы распределения в группы лечения: использовали интерактивную систему, обеспечивающую доступ путем голосового ответа и через интернет (IXRS), для рандомизации субъектов в группу лечения и присвоения кодовых номеров заслепленным комплектам исследуемого продукта. Субъект считался рандомизированным в исследование, когда исследователь уведомил IXRS о том, что субъект соответствует критериям включения, а IXRS назначает субъекту заслепленные комплекты исследуемого продукта с присвоенными кодовыми номерами.

В каждой когорте 8 субъектов рандомизировали в соотношении 6:2 для получения MEDI6012 или плацебо. Планировали подход сигнального введения доз для каждой когорты. Для сигнального введения доз 2 субъектов рандомизировали в соотношении 1:1 для получения первыми MEDI6012 или плацебо. Время задержки ≥ 24 часов проходило до того, как оставшимся субъектам в когорте вводили дозы.

Исследуемый продукт вводили в течение 24 часов после рандомизации. Если произошла задержка в использовании исследуемого продукта, так что он не был введен в течение указанного периода времени, немедленно уведомляли медицинского наблюдателя.

Разрешенные сопутствующие лекарственные препараты: предполагали, что субъекты, включенные в исследование и у которых установили атеросклеротическое CVD, будут проходить лечение в соответствии с текущими руководствами по лечению (например АНА/ACCF Secondary Prevention and Risk Reduction Therapy for Patients with Coronary and Other Atherosclerotic Vascular Disease, 2011 and ACC/ANA Blood Cholesterol Guideline, 2013) и они получали бы ряд кардиопротективных препаратов. Субъекты должны были придерживаться своей текущей схемы лечения на всем протяжении от скрининга до конца исследования. Исследователи назначали сопутствующие лекарственные препараты или виды лечения, которые считаются необходимыми для обеспечения адекватной поддерживающей терапии, за исключением "исключенных" лекарственных препаратов, описанных ниже. В частности, субъекты продолжали принимать свои обычные предписанные дозы статинов и лекарственных препаратов для коррекции артериального давления и получали полную поддерживающую терапию в ходе исследования, включая переливания крови и продуктов крови, а также лечение антибиотиками, противорвотными средствами, противодиарейными средствами и анальгетиками, а также другое лечение, которое было сочтено целесообразным, и в соответствии с руководствами, принятыми в данном учреждении.

Прием сопутствующих лекарственных препаратов, включая безрецептурные лекарственные препараты, растительные добавки и витамины, которые могут влиять на контроль липидов (за исключением статинов), был запрещен на всем протяжении от скрининга до завершения визитов исследования. Субъектам давали указание не принимать никаких лекарственных препаратов, в том числе безрецептурных, без предварительной консультации с исследователем. Из-за их влияния на липиды системные кортикостероиды также были запрещены в течение 28 дней до скрининга и на протяжении

всего исследования за исключением тех случаев, когда это было необходимо для лечения генерализованной аллергической реакции, анафилаксии, как определено в руководствах исследования, или другого серьезного медицинского состояния. Ингаляционные, интраназальные, местные, глазные и внутрисуставные кортикостероиды были разрешены. Использование системных кортикостероидов требует обсуждения и разрешения медицинского наблюдателя.

Статистические оценки

Общие положения: данные предоставляли в списках, отсортированных по когорте, группе лечения и номеру субъекта. Табличные сводки представляли по группе лечения с объединенной группой плацебо (и отдельно по в/в и п/к путям), когда это было необходимо. Категориальные данные обобщали по количеству и проценту субъектов в каждой категории. Непрерывные переменные обобщали по описательной статистике, включая среднее значение, стандартное отклонение, медиану, минимум и максимум. Значения исходного уровня определяли как последнюю актуальную оценку до первого введения исследуемого продукта.

Определение популяции для анализа: популяция, фактически получавшая лечение, включала всех субъектов, которые получили любое количество исследуемого продукта (MEDI6012). Субъектов анализировали в соответствии с лечением, которое они фактически получили. Популяция РК включала всех субъектов в популяции, фактически получавшей лечение, которые имели по меньшей мере одно определяемое измерение концентрации LCAT в сыворотке крови.

Размер выборки и расчеты статистической мощности: исследование планировали как включающее в общей сложности 48 субъектов. В каждой когорте было 8 субъектов, рандомизированных в соотношении 6:2 для получения MEDI6012 или плацебо (фиг. 1). Размер выборки для данного исследования с однократным введением в нарастающих дозах определяли эмпирически, и он предназначен для обеспечения адекватных данных по безопасности, переносимости и РК/PD для достижения целей исследования при воздействии исследуемого продукта и процедур исследования на как можно меньшее число субъектов.

В данном исследовании 8 субъектов получали плацебо посредством в/в введения, а 4 субъекта получали плацебо посредством п/к введения. Допуская общее стандартное отклонение 280 и двухсторонний уровень значимости 0,05, текущие размеры выборки обеспечивали > 99% мощности для определения разницы 1300 мг час/дл между каждой

группой MEDI6012 по сравнению с плацебо с тем же путем введения для скорректированной относительно исходного уровня $AUC_{0-96ч}$ HDL-C.

Результаты исследования

Исследование SAD соответствовало своей основной PD-конечной точке и достигло дозозависимого повышения HDL-C при дозах, более низких, чем это ожидалось. Однократная в/в доза MEDI6012, вводимая субъектам в количестве от 24 до 800 мг, демонстрировала дозозависимое повышение холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-C), сложных эфиров холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-CE) и CE в соответствии с механизмом действия фермента LCAT. Как показано в приведенной ниже таблице 1, статистически значимое повышение в отношении скорректированной относительно исходного уровня AUC (0-96ч) HDL-C наблюдали во всех группах лечения с в/в введением (т. е. при дозах MEDI6012 80 мг, 240 мг и 800 мг) за исключением группы, которая получала MEDI6012 в дозе 24 мг. Определили, что повышение AUC (0-96ч) HDL-C зависит от дозы.

Таблица 1. Скорректированная относительно исходного уровня AUC (0-96ч) HDL-C; популяция, фактически получавшая лечение (группа с в/в введением)

	Плацебо в/в (N=8)	MEDI6012 24 мг в/в (N=6)	MEDI6012 80 мг в/в (N=6)	MEDI6012 240 мг в/в (N=6)	MEDI6012 800 мг в/в (N=6)	MEDI6012 Всего в/в (N=24)
N	8	6	5	6	6	23
Среднее значение (SD)	-49,1 (120,0)	728,3 (334,2)	1639,9 (631,7)	3035 (439,1)	5318,3 (1674,3)	2725,6 (1998,5)
Медианное значение	-37,2	749,8	1724,9	3221,8	5214,4	2394,3
Среднее значение, определенное методом наименьших квадратов	-55,4	668,2	1607,8	3147,2	5301,3	2726,9
P-значение		0,095	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Как показано в приведенной ниже таблице 2, статистически значимое повышение HDL-C с учетом скорректированной относительно исходного уровня AUC (0-168ч) наблюдали во всех группах лечения с в/в введением (т. е. при дозах MEDI6012 80 мг, 240 мг и 800 мг) за исключением группы, которая получала MEDI6012 в дозе 24 мг. Оказалось, что повышение AUC (0-168ч) HDL-C является дозозависимым.

Таблица 2. Скорректированная относительно исходного уровня AUC (0-168ч) HDL-C; популяция, фактически получавшая лечение (группа с в/в введением)

	Плацебо в/в (N=8)	MEDI6012 24 мг в/в (N=6)	MEDI6012 80 мг в/в (N=6)	MEDI6012 240 мг в/в (N=6)	MEDI6012 800 мг в/в (N=6)	MEDI6012 Всего в/в (N=24)
N	8	6	5	6	6	23
Среднее значение (SD)	-40,8 (394,4)	1084,7 (397,3)	2216,1 (1280,4)	4518,9 (807,1)	7838,9 (2956,5)	3988,5 (3098,7)
Медианное значение	-67,5	1125,1	2441,7	4642,5	7264	3834,3
Среднее значение, определенное методом наименьших квадратов	-51,9	978,5	2159,4	4717,1	7808,8	3991
P-значение		0,182	0,01	<0,001	<0,001	0,001

Для популяции с подкожным (п/к) введением MEDI6012 статистически значимое повышение с учетом скорректированной относительно исходного уровня AUC (0-96ч) HDL-C наблюдали в группе лечения субъектов, которые получали 600 мг MEDI6012 путем п/к введения. Это показано в таблице 3 ниже.

Таблица 3. Скорректированная относительно исходного уровня AUC (0-96ч) HDL-C; популяция, фактически получавшая лечение (группы с п/к введением)

	Плацебо п/к (N=4)	MEDI6012 80 мг п/к (N=6)	MEDI6012 600 мг п/к (N=6)	MEDI6012 Всего п/к (N=12)

	Плацебо п/к (N=4)	MEDI6012 80 мг п/к (N=6)	MEDI6012 600 мг п/к (N=6)	MEDI6012 Всего п/к (N=12)
N	4	5	5	10
Среднее значение (SD)	-113,5 (289,4)	422,4 (395,7)	2844,7 (1219,1)	1633,5 (1536,2)
Медианное значение	-65,5	515,2	3029,9	1076,2
Среднее значение, определенное методом наименьших квадратов	-43,7	403,6	2807,7	1595,6
P-значение		0,440	<0,001	0,085

Кроме того, статистически значимое повышение с учетом скорректированной относительно исходного уровня AUC (0-168ч) HDL-C наблюдали в группе лечения субъектов, которые получали 600 мг MEDI6012 путем п/к введения, как это показано в таблице 4 ниже:

Таблица 4. Скорректированная относительно исходного уровня AUC (0-168ч) HDL-C; популяция, фактически получавшая лечение (группа с п/к введением)

	Плацебо п/к (N=4)	MEDI6012 80 мг п/к (N=6)	MEDI6012 600 мг п/к (N=6)	MEDI6012 Всего п/к (N=12)
N	4	5	5	10
Среднее значение (SD)	-168,1 (620,3)	721,1 (714,2)	5250,1 (2175,6)	2985,6 (2833,4)
Медианное значение	-221,8	863,5	5629,4	1998,6
Среднее	-38	686,1	5181,0	2914,8

значение, определенное методом наименьших квадратов				
P-значение		0,486	<0,001	0,092

Внутривенное введение MEDI6012 субъектам исследования приводило к дозозависимому повышению уровней LDL-C в сыворотке крови у субъектов (фиг. 2A и 2B), но также приводило к статистически значимому снижению apoB при всех уровнях в/в дозы, т. е. при 24, 80, 240, 800 мг (фиг. 3A и 3B). Сообщалось, что ApoB является лучшим прогностическим фактором риска возникновения CHD, чем LDL-C, как у мужчин, так и у женщин, а количество атерогенных частиц, например apoB, может служить более важным показателем риска, чем количество холестерина (LDL-C), которое транспортируется в данных частицах. (обзор в Vaverkova, H., 2011, *Clin Lipidology*, 6(1):35-48; Sniderman, AD et al., 2003, *Lancet*, 361:777-780). Поскольку все потенциально атерогенные липопротеиновые частицы содержат только одну молекулу apoB и различные количества холестерина, apoB служит лучшим маркером количества атерогенных липопротеиновых частиц, чем LDL-C. Следовательно, обнаружение значительного снижения apoB после применения различных доз и схем введения доз MEDI6012, описанных в данном документе, демонстрирует, что MEDI6012 обеспечивает значительные преимущества в плане эффективного и протективного лечения субъектов с сердечно-сосудистым заболеванием, несмотря на наблюдение повышения LDL-C.

У субъектов, получавших подкожное (п/к) введение MEDI6012 в дозах 80 и 600 мг, наблюдали дозозависимое повышение HDL-C с течением времени для обеих доз по сравнению с плацебо, исходя из концентрации HDL-C в сыворотке крови с течением времени (фиг. 4A) и изменения относительно исходного уровня концентрации HDL-C в сыворотке крови с течением времени (фиг. 4B). Как показано на фиг. 5A и 5B, не наблюдали значительного изменения уровней LDL-C при всех подкожных дозах MEDI6012, то есть при 80 и 600 мг. Подобно результатам, полученным для в/в введения MEDI6012, снижение apoB наблюдали с течением времени для обеих п/к доз MEDI6012 по сравнению с плацебо (фиг. 6A и 6B). Введение MEDI6012 приводило к статистически значимому повышению концентраций apoA1 в сыворотке крови с течением времени в

группе с дозой 600 мг, которая получала MEDI6012 путем п/к введения (фиг. 7A и 7B), а также при всех в/в дозах (24 мг, 80 мг, 240 мг и 800 мг) MEDI6012, вводимых субъектам с течением времени (фиг. 7C и 7D).

У субъектов, получавших внутривенное (в/в) введение MEDI6012 в дозах 24 мг, 80 мг, 240 мг и 800 мг, наблюдали дозозависимое повышение HDL-C с течением времени, особенно в течение периода времени, равного примерно 8–12 дням, для каждой дозы по сравнению с плацебо, исходя из концентрации HDL-C в сыворотке крови с течением времени (фиг. 4C) и изменения относительно исходного уровня концентрации HDL-C в сыворотке крови с течением времени (фиг. 4D). Повышение HDL-C было особенно выраженным в течение первых 2–5 и даже 8 дней после в/в введения в указанных дозах MEDI6012.

Дальнейшие результаты показали, что данный способ обеспечивает антиатерогенные эффекты, основанные на снижении уровня малых частиц LDL (LDL-P), которые являются атерогенными факторами, которые из-за своего малого размера могут проникать в стенки кровеносных сосудов и повреждать сосуды. В частности, результаты способов по настоящему изобретению продемонстрировали, что снижение уровней малых LDL-P составляло приблизительно 40–41% при дозе MEDI6012 80 мг и что снижение уровней малых LDL-P составляло приблизительно 80% при дозе MEDI6012 240 мг без дополнительного повышения при дозе 800 мг. Это показывают результаты, представленные на фиг. 17. Следовательно, дозы MEDI6012 в количестве 80 мг – 240 мг вызывали существенное снижение уровней вредных LDL-P, обеспечивая таким образом дополнительные терапевтические и кардиопротективные и защищающие сердечно-сосудистую систему преимущества, предоставляемые описанными способами.

Таким образом, исследование SAD продемонстрировало, что однократная инфузия MEDI6012 (фермента LCAT) у пациентов с ишемической болезнью сердца (CHD) на фоне терапии статинами вызывала дозозависимое повышение холестерина HDL (HDL-C), сложных эфиров холестерина HDL (HDL-CE) и общего CE; соответствующее механизму действия LCAT. Кроме того, однократная доза MEDI6012 вызывала дозозависимое повышение аполипопротеина A1 (ApoA1), которое достигало максимума при дозах от 80 мг до 240 мг.

Пример 2 – клиническое испытание, включающее лечение субъектов со стабильным атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием (CVD) с использованием повторных доз MEDI6012 (rhLCAT)

Общий дизайн испытания

Разработали рандомизированное слепое плацебо-контролируемое исследование фазы 2a для оценки безопасности, фармакокинетики и фармакодинамики многократного (многократное введение в нарастающих дозах (MAD)) введения MEDI6012, включающего повторное еженедельное введение доз субъектам со стабильным атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием. Данное исследование с повышением дозы было проведено для оценки безопасности, PK/PD и иммуногенности повторных доз MEDI6012 у взрослых пациентов со стабильным атеросклеротическим CVD. По меньшей мере 32 субъекта рандомизировали в примерно 10 исследовательских центрах в Соединенных Штатах (США) для оценки 4 уровней дозы MEDI6012 (40, 120, 300 мг) (в когортах 1–3) и схемы в/в струйного введения, включающей нагрузочную (первую) дозу 300 мг с последующей поддерживающей (второй) дозой 150 мг через 48 часов и поддерживающей (третьей) дозой 100 мг MEDI6012 через приблизительно неделю (7 дней) (когорта 4, как это описано в примере 3 ниже). Исследуемый продукт MEDI6012 вводили субъектам из когорт 1–3 еженедельно путем внутривенной (в/в) инфузии. Оценки эффектов введения доз MEDI6012 у субъектов исследования в когортах 1–3 проводили в ходе продолжающегося исследования, как это описано в данном документе. Когорта 4 исследования MAD описана в примере 3 ниже.

В каждой когорте 8 субъектов рандомизировали в соотношении 6:2 для получения MEDI6012 или плацебо. Субъектам из когорт 1–3 исследуемый продукт MEDI6012 вводили внутривенно в виде в/в инфузии в течение 1 часа, и у данных пациентов проводили ряд промежуточных анализов.

Субъекты из когорт 1–3 продолжающегося исследования MAD проходили период скрининга до 28 дней. Субъектам, нуждающимся в выведении лекарственного препарата или добавки против дислипидемии, был разрешен 56-дневный период скрининга. Субъекты поступали в исследовательский центр вечером накануне рандомизации и введения первой дозы (день –1) и накануне введения третьей дозы и могли, при желании, оставаться в исследовательском центре в течение 24–36 часов. Субъектов дозы 2 наблюдали как стационарных пациентов в течение по меньшей мере 8 часов после введения дозы. Для когорты 4 амбулаторные условия могли быть предоставлены до дня 4.

Субъектов наблюдали как амбулаторных пациентов в течение 56 дней после последней дозы исследуемого продукта (визит в день 71 для когорт 1–3, визит в день 66 для когорты 4). Субъектов призывали вести здоровый образ жизни, включая диету и физические упражнения, в течение периода исследования.

Целевая популяция субъектов и исследуемый продукт, дозировка и способ введения

Целевой популяцией субъектов в данном исследовании были взрослые мужчины или женщины в возрасте от 60 до 80 лет с задокументированным стабильным атеросклеротическим CVD в анамнезе.

Дозировка и способ введения исследуемого лекарственного продукта MEDI6012 в когортах 1–3 были следующими:

когорта 1: 40 мг MEDI6012 (n = 6) или плацебо (n = 2) в/в в дни 1, 8 и 15;

когорта 2: 120 мг MEDI6012 (n = 6) или плацебо (n = 2) в/в в дни 1, 8 и 15; и

когорта 3: 300 мг MEDI6012 (n = 6) или плацебо (n = 2) в/в в дни 1, 8 и 15.

Размер выборки: как отмечалось выше, как минимум 32 субъекта, включенные в продолжающееся исследование, были в когортах, каждая из которых включала 8 субъектов, рандомизированных в соотношении 6:2 для получения MEDI6012 или плацебо. Размер выборки для данного исследования с многократным введением в нарастающих дозах определяли эмпирически так, чтобы обеспечить адекватные данные о безопасности, переносимости и РК/PD для достижения целей исследования.

Статистические анализы: анализ безопасности был основан на популяции, фактически получавшей лечение. Сбор информации о нежелательных явлениях (АЕ) и серьезных нежелательных явлениях начинали после того, как субъект подписал документ информированного согласия, и продолжали до завершения визитов исследования. TEAE и TESAE присваивали код согласно последней версии Медицинского словаря терминов для нормативной деятельности (MedDRA), и обобщали тип, частоту, тяжесть и связь с исследуемым продуктом. Специфические АЕ подсчитывали однократно для каждого субъекта с целью расчета процентов. Кроме того, если одно и то же АЕ встречалось несколько раз в пределах конкретного субъекта, сообщали о наиболее высокой степени тяжести и уровне наблюдаемой взаимосвязи. Все TEAE и TESAE обобщали в целом, а также классифицировали по классу систем и органов и предпочтительному термину MedDRA.

PD-параметры, представляющие основной интерес, представляют собой скорректированную относительно исходного уровня AUC от 0 до 96 часов после введения дозы 3 HDL-C ($AUC_{0-96ч}$ дозы 3), HDL-CE и CE. AUC рассчитывали с применением правила трапеций. Статистическое сравнение между группами лечения с объединенной группой плацебо проводили с использованием ковариационного анализа (ANCOVA) путем корректировки относительно HDL-C, HDL-CE и CE исходного уровня и группы лечения. Другие конечные точки, включая $AUC_{0-96ч}$ дозы 1, $AUC_{0-168ч}$ дозы 1, $AUC_{0-168ч}$ дозы 3 (AUC от 0 до 168 часов в день 1 после дозы 3), $AUC_{1-22дня}$, HDL-C, TC, FC, CE, HDL-CE, HDL-UC, non-HDL-C, non-HDL-CE, non-HDL-UC, LDL C (посредством прямого измерения с помощью стандартного лабораторного теста), apoA1 и apoB, анализировали аналогично основной PD-конечной точке.

Изменение и процентное изменение от исходного уровня в каждый момент времени для каждого из указанных выше липидов, липопротеинов и аполипопротеинов, а также для VLDL-C, TG, apoB1-HDL, apoA1, apoAII, apoCIII и apoE анализировали и сравнивали с использованием ANCOVA путем корректировки относительно исходного уровня и группы лечения с объединенной группой плацебо. Для ANCOVA, если данные не были нормально распределены, анализы проводили на данных с преобразованием рангов.

Описательную статистику предоставляли по группам лечения для максимального ответа биомаркера (R_{max}) и времени достижения максимального ответа биомаркера ($[R] T_{max}$) для каждого из них.

Частоту и титр ADA сводили в таблицу для каждой оцениваемой группы лечения. Образцы с положительным результатом на ADA тестировали и анализировали в отношении титра pAb и аналогично обобщали.

Некомпаратментный анализ проводили для субъектов, получавших MEDI6012. Профили зависимости «время-активная концентрация и масса MEDI6012» в сыворотке крови суммировали по когорте дозы. Поступающие данные в виде PK-параметров включали максимальную концентрацию лекарственного средства в плазме крови (C_{max}), время достижения максимальной концентрации (T_{max}), AUC, коэффициент накопления и период полувыведения в конечной фазе ($t_{1/2}$). Предоставляли описательную статистику для PK-параметров.

Дополнительные PK-анализы проводили по мере необходимости. Если данные позволяли, проводили популяционный PK-анализ, но его не представляли в отчете о клиническом исследовании (CSR).

Первичный анализ: первичный анализ данных безопасности, иммуногенности, PK и PD проводили после того, как последний субъект прошел последний запланированный визит или выбыл из исследования до его завершения (день 71 для когорт 1–3) и о нем сообщили в CSR.

Основные, вторичные и эксплоративные цели исследования

Основная цель безопасности исследования MAD состояла в том, чтобы оценить безопасность MEDI6012 после повторного введения дозы у субъектов со стабильным атеросклеротическим CVD с течением времени до дня 71 для когорт 1–3 или до дня 66 для когорты 4 (пример 3). Основная PD-цель состояла в том, чтобы установить, что повторное введение дозы MEDI6012 приводило к устойчивому и обратимому дозозависимому ответу в отношении PD HDL-C, HDL-CE и CE, уровни которых оценивали в ходе исследования.

Вторичными целями исследования были определение PK-профиля MEDI6012 после повторного введения дозы; оценка влияния MEDI6012 на ряд PD-биомаркеров после повторного введения дозы; и оценка потенциала иммуногенности MEDI6012. Эксплоративная цель данного исследования заключалась в изучении биомаркеров размера, состава и функции липопротеинов высокой плотности (HDL) (и липопротеинов низкой плотности (LDL) и липопротеинов очень низкой плотности (VLDL)).

Конечные точки исследования

Безопасность и переносимость MEDI6012, измеряемые по частоте нежелательных явлений, возникших после начала лечения (TEAE), и серьезных нежелательных явлений, возникших после начала лечения (TESAE), и по клинически значимым изменениям в электрокардиограмме с 12 отведениями, показателях жизненно важных функций и клинических лабораторных оценках с течением времени до дня 71 для когорт 1–3:

Основная конечная PD-точка: скорректированная относительно исходного уровня площадь под кривой зависимости «концентрации-время» от 0 до 96 часов после введения дозы 3 ($AUC_{0-96ч}$) для HDL-C, HDL-CE и CE.

Вторичные конечные точки: PK для массы и активности MEDI6012. Концентрация в сыворотке крови других ключевых липидов и липопротеинов: CE, HDL-CE, неэтерифицированный холестерин HDL (HDL-UC), non-HDL-C, non-HDL-CE, non-HDL-UC, холестерин липопротеинов низкой плотности (LDL-C), общий холестерин (TC),

аполипопротеин В (apoB), триглицериды (TG), холестерин липопротеинов очень низкой плотности (VLDL-C), свободный холестерин (FC) и apoA1, apoAII, apoCIII, аполипопротеин Е (apoE), пре β 1-HDL и продуцирование антител к лекарственным средствам (ADA) и pAb с сопутствующим снижением уровня HDL-C.

Эксплоративная конечная точка: измерение размера частиц липопротеинов, их количества, функции и другие анализы, оценивающие влияние изменений в метаболизме липидов.

Обоснование дозы в дизайне исследования

Не ограничиваясь конкретной теорией, предпосылка к клинической разработке MEDI6012 состоит в том, что введение MEDI6012 (rhLCAT) пациентам с атеросклеротическим CVD будет повышать мобилизацию холестерина из тканей, в том числе холестерина из атеросклеротических бляшек в коронарных, цереброваскулярных и периферических артериях, что приводит к их стабилизации и, как следствие, к снижению риска возникновения повторных серьезных нежелательных CV-событий. Кроме того, ожидаемые улучшения функции HDL могут привести к модуляции воспаления и улучшению эндотелиальной функции, что также может способствовать снижению основных нежелательных CV-событий.

Как указано в примере 1, однократная доза MEDI6012, вводимая субъектам в количествах 24, 80, 240 или 800 мг в/в и 80 или 600 мг п/к, показала приемлемый профиль безопасности и дозозависимое повышение HDL-C, HDL-CE и CE. Поэтому MEDI6012 оценивали в исследовании MAD с использованием дизайна с многократным введением в нарастающих дозах для характеристики клинических PK и PD, а также его безопасности и иммуногенности в условиях повторных доз. Протокол определяли как исследование фазы 2a, поскольку основная PD-конечная точка статистически рассчитана для оценки в целевой популяции субъектов и основана на данных исследования фазы 2a с однократным введением в нарастающих дозах (пример 1).

Исследование с многократным введением в нарастающих дозах фазы 2a разработали для предоставления PK/PD-данных, данных безопасности и иммуногенности для повторного введения MEDI6012 в популяции со стабильным атеросклеротическим CVD. У субъектов, участвующих в данном исследовании, обнаружили атеросклероз в по меньшей мере одном сосудистом русле (коронарном, каротидном или в периферических артериях). В когортах 1–3 субъектам вводили три в/в дозы еженедельно. В когорте 4 субъектам вводили нагрузочную дозу в день 1 и поддерживающие дозы в дни 3 и 10 путем

в/в струйного введения, как это описано в примере 3 ниже. Ожидается, что у субъектов могут наблюдаться кратковременные изменения липидных/липопротеиновых параметров в зависимости от схемы приема дозы 3 и продолжительности исследования. Долгосрочное терапевтическое преимущество предполагается при более длительном введении дозы MEDI6012 с использованием схем повторного введения, как это описано в данном документе. Риск для субъектов минимизировали с помощью строгих критериев включения, чтобы избежать включения нестабильных субъектов или субъектов с высоким риском, а также путем тщательного мониторинга нежелательных явлений (АЕ), лабораторных параметров, показателей жизненно важных функций и электрокардиограмм (ЭКГ). Кроме того, PK, PD и иммуногенность оценивали на постоянной основе в ходе всего исследования.

Основная гипотеза исследования заключается в том, что повторное введение доз MEDI6012 демонстрирует приемлемый профиль безопасности у субъектов со стабильным атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием (CVD) и что повторное введение доз MEDI6012 приводит к устойчивому и обратимому дозозависимому ответу со стороны холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-C), сложных эфиров холестерина (CE) и сложных эфиров холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-CE), что позволяет вводить лекарственное средство один раз в неделю или реже. Вторичные гипотезы, связанные с исследованием, заключаются в том, что (i) повторное введение доз MEDI6012 дает фармакокинетический (PK) профиль (масса лецитин-холестерин-ацилтрансферазы (LCAT) и активность LCAT), который позволяет вводить дозу один раз в неделю или чаще; (ii) схема, предусматривающая начальную нагрузочную дозу MEDI6012, после которой следует доза через 48 часов и через 1 неделю, приводит к быстрому повышению HDL-C и/или apoA1 по сравнению с отсутствием нагрузочной дозы, а также к поддержанию фармакодинамического (PD) эффекта в течение 7 и более; (iii) повторное введение доз MEDI6012 приводит к дозозависимым ответам в отношении других ключевых фармакодинамических (PD) биомаркеров у субъектов со стабильным атеросклеротическим CVD; и (iv) повторное введение доз MEDI6012 не приводит к продуцированию нейтрализующих антител к лекарственному средству (nAb), которые перекрестно реагируют с эндогенным LCAT, приводя к снижению уровня HDL-C.

Основные, вторичные и эксплоративные цели и конечные точки исследования

Основная цель безопасности исследования включала оценку безопасности MEDI6012 после повторного введения дозы у субъектов со стабильным атеросклеротическим CVD с течением времени до дня 71 для когорт 1–3. Основная PD-цель состоит в том, чтобы установить, что повторное введение дозы MEDI6012 приводит к устойчивому и обратимому дозозависимому ответу в отношении HDL-C, HDL-CE и CE.

Основная конечная точка безопасности учитывает безопасность и переносимость MEDI6012, измеряемую по частоте TEAE и TESAЕ, а также клинически значимым изменениям ЭКГ в 12 отведениях, показателей жизненно важных функций и клинических лабораторных оценок с течением времени до 71 дня для когорт 1–3. Основная PD-конечная точка представляет собой скорректированную относительно исходного уровня площадь под кривой зависимости «концентрация-время» от 0 до 96 часов после введения дозы 3 (AUC_{0-96ч}) для HDL-C, HDL-CE и CE.

Обоснование основной конечной точки: основные PD-конечные точки HDL-C, HDL-CE и CE анализировали как скорректированную относительно исходного уровня AUC_{0-96ч} после третьей дозы MEDI6012 у оцениваемых субъектов. Поскольку rhLCAT этерифицирует свободный холестерин в HDL, ожидается, что эффективность MEDI6012 коррелирует с изменениями уровней HDL-C, HDL-CE и CE. Данная взаимосвязь подтвердилась на основании предыдущих исследований и исследования SAD у пациентов со стабильным CAD, получающих MEDI6012 (пример 1). Это также подтверждается результатами токсикологического исследования MEDI6012 на макаках-крабоедах (нормальные животные с интактным эндогенным rhLCAT и высокими уровнями HDL-C), которое показало значительное и кратковременное повышение уровня HDL-C после инфузии MEDI6012.

Вторичные цели состоят в том, чтобы установить PK-профиль MEDI6012 после повторного введения дозы; установить PD-эффект MEDI6012 после начальной нагрузочной дозы с последующей дозой через 48 часов и 1 неделю (только для когорты 4, пример 3); оценить влияние MEDI6012 на ряд PD-биомаркеров после повторного еженедельного введения дозы; и оценить потенциал иммуногенности MEDI6012.

Вторичные конечные точки включают оценку PK для массы и активности MEDI6012; концентрации в сыворотке крови других ключевых липидов и липопротеинов: CE, HDL-CE, HDL-UC, non-HDL-C, non-HDL-CE, non-HDL-UC, LDL-C, TC, аполипопротеин В (apoB), триглицериды (TG), холестерин липопротеинов очень низкой плотности (VLDL-C), FC и apoA1, apoAII, apoCIII, аполипопротеин E (apoE), преβ1-

липопротеин высокой плотности (pre β 1-HDL) и продуцирование ADA и pAb с сопутствующим снижением уровня HDL-C.

Обоснование PD- и РК-конечных точек: липопротеины и компоненты липидной панели выбрали потому, что перемещение этих маркеров в результате введения доз MEDI6012 предоставило подтверждающие доказательства повышенной активности в системе обратного транспорта холестерина (RCT) в исследовании с однократным введением в нарастающих дозах. Общий холестерин (TC) представляет собой сумму незатерифицированного и затерифицированного холестерина на всех липопротеинах плазмы крови. HDL-C представляет собой количество холестерина, присутствующего в частицах HDL, которое можно дополнительно разделить на фракции HDL-UC и HDL-CE. Ожидается, что, благодаря своей ферментативной активности, MEDI6012 приведет к повышению HDL-C, основного PD-биомаркера. По уровням TC и LDL-C дополнительно оценивают влияние ghLCAT на RCT, и поэтому их определили как PD-вторичные конечные точки.

Концентрацию MEDI6012 в сыворотке крови (массу) использовали для характеристики воздействия MEDI6012. РК также использовали для обнаружения взаимосвязей доза-воздействие-PD для содействия в обоснованном выборе дозы для будущих клинических исследований. Активность LCAT в сыворотке крови предоставляет альтернативную меру массы LCAT при установлении взаимосвязи между РК и PD.

Эксплоративная цель исследования заключается в изучении биомаркеров размера, состава и функции HDL (и липопротеинов низкой плотности (LDL), и липопротеинов очень низкой плотности (VLDL)) после введения MEDI6012. Эксплоративная конечная точка включает измерение размера частиц липопротеинов, их количества, функции и другие анализы, оценивающие влияние изменений в метаболизме липидов. Обоснование эксплоративных PD-конечных точек (размер частиц липопротеинов и количество частиц) было таким же, как и для исследования SAD, описанного в примере 1.

Схема лечения

В когортах 1–3 исследования MAD при включении в исследование 32 пациентов оценивали 3 величины дозы MEDI6012 посредством в/в инфузий (40, 120 и 300 мг) с введением повторной дозы, как это представлено в таблице 5 ниже. PD и РК анализировали, когда они становились доступными, в ходе исследования.

Таблица 5. Исследование схем лечения MAD для когорт 1–3

Когорт а	Доза	Количество доз и частота введения	Количест во	Рандомизация
1	40 мг в/в	3 дозы, вводимые один раз в неделю	8	6 MEDI6012:2 плацебо
2	120 мг в/в	3 дозы, вводимые один раз в неделю	8	6 MEDI6012:2 плацебо
3	300 мг в/в	3 дозы, вводимые один раз в неделю	8	6 MEDI6012:2 плацебо

Исследуемое лекарственное средство (MEDI6012) и проведение лечения

Исследуемое лекарственное средство MEDI6012, плацебо и раствор IVBP для исследования MAD являются такими, как описано для исследования SAD в примере 1.

Введение MEDI6012 путем инфузии в когортах 1–3 в исследовании MAD осуществляли согласно тому же протоколу, который использовали в исследовании SAD, описанном в примере 1.

Для проведения лечения первый день введения дозы MEDI6012 считается днем 1. В каждый день введения доз, после ночного голодания в течение минимум 6 часов, исследуемый продукт вводят субъекту в кратчайшие сроки после пробуждения. Исследуемый продукт MEDI6012 вводят субъекту путем в/в инфузии в течение периода, равного примерно 60 минутам (± 5 минут), в когортах 1–3. Во время исследования субъекты продолжают принимать любые другие назначенные им лекарственные препараты, такие как статины, в их обычной предписанной дозе (дозах) и любой другой лекарственный препарат (препараты), назначенные им для лечения у них атеросклеротического CVD.

Дизайн исследования и обоснование дозы для когорт 1–3 исследования MAD

Дозы для когорт 1–3 в исследовании MAD выбирали на основе предварительного PK/PD-анализа, который интегрировал PK/PD-данные от когорт с 1 по 3 из исследования MEDI6012 с однократным введением в нарастающих дозах (пример 1). Дозозависимое повышение биомаркеров активности LCAT, в том числе HDL-C, HDL-CE и CE, наблюдали для MEDI6012 после однократного введения в нарастающих дозах (когорты с 1 по 3, 24-240 мг в/в).

Статистическая оценка, определение анализируемой популяции (популяции, фактически получавшей лечение), а также размер выборки и расчеты статистической мощности являются такими, как описано для исследования SAD в примере 1 выше.

Результаты исследования

Анализ результатов для когорт 1–3 продолжающегося исследования MAD показал, что введение MEDI6012 исследуемым субъектам согласно данным схемам с повторным введением доз, а именно: введение MEDI6012 в дозе 40 мг субъектам путем в/в инфузии в дни 1, 8 и 15 (когорты 1); введение MEDI6012 в дозе 120 мг субъектам путем в/в инфузии в дни 1, 8 и 15 (когорты 2), и введение MEDI6012 в дозе 300 мг субъектам путем в/в инфузии в дни 1, 8 и 15 (когорты 3), привело к дозозависимому повышению HDL-C, HDL-CE, apoA1 и CE, что согласуется с механизмом действия фермента LCAT (фиг. 8A – 8D).

Повышение уровней LDL наблюдали после первой дозы 120 мг и при введении третьей дозы как 40 мг, так и 120 мг (фиг. 9A и 9B); однако не наблюдали повышения apoB (фиг. 10A и 10B). Ряд сообщений показал, что apoB является лучшим прогностическим фактором риска возникновения CHD, чем LDL-C, как у мужчин, так и у женщин, и что количество атерогенных частиц, таких как apoB, может служить более важным индикатором риска, чем количество холестерина (LDL-C), которое транспортируется в этих частицах. (обзор в Vaverkova, H., 2011, *Clin Lipidology*, 6(1):35-48; Sniderman, AD et al., 2003, *Lancet*, 361:777-780). Поскольку все потенциально атерогенные липопротеиновые частицы содержат только одну молекулу apoB и различные количества холестерина, apoB служит лучшим маркером количества атерогенных липопротеиновых частиц, чем LDL-C. Следовательно, незначительное повышение или отсутствие повышения apoB у субъектов, которым вводили LCAT (MEDI6012), как это показано в данном документе, свидетельствует о протективном лечении с массой преимуществ, несмотря на наблюдаемое повышение уровня LDL-C.

На фиг. 11A и 11B показано, что концентрации общего холестерина (TC) и свободного холестерина (FC) в сыворотке крови были повышены по сравнению с плацебо только при наивысшей дозе MEDI6012 (300 мг).

Пример 3

Критерии выбора дозы для когорты 4 исследования MAD

PD-наблюдения, полученные в исследовании с однократным введением в нарастающих дозах MEDI6012, как описано в примере 1, и от когорт (когорты 1–3), проанализированных в исследовании MAD, как описано в примере 2 выше,

продемонстрировали, что скорость повышения HDL-C и apoA1 является дозозависимой. Для дополнительных исследований на субъектах с заболеванием сердца и/или сердечно-сосудистым заболеванием, как, например, ACS и острый MI, максимальное увеличение скорости повышения HDL-C и/или apoA1 после первой и второй доз MEDI6012 использовали в качестве основания для обоснования того, что сочетание антиатеросклеротических эффектов усиленного обратного транспорта холестерина с кардиопротективными эффектами HDL-C и/или apoA1 (что также обнаружили после введения MEDI6012 в когортах, описанных в данном документе), как ожидается, может давать множество преимуществ пациентам с CHD (что также подтверждается сообщениями Gordts et al, 2013, *Gene Ther.*, 20(11):1053-61; Kalakech et al, 2014, *PLoS One*, 9(9):e107950; Marchesi et al, 2004, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 311(3):1023-31; Richart et al, 2015, *Circulation*, 132(Suppl 3):A17001-A и Theilmeier et al, 2006, *Circulation*, 114(13):1403-9). Таким образом, когорта 4 была предназначена для добавления в протокол клинического исследования MAD с целью анализа в/в введения нагрузочной дозы MEDI6012 путем в/в струйного введения с последующими поддерживающими дозами MEDI6012 через 48 часов, а затем еженедельно.

Основные цели и конечные точки целей для когорты 4 такие же, как описанные для когорт 1–3 в примере 2. Вторичные цели для исследования когорты 4 включают установление PD-эффекта MEDI6012 после начальной нагрузочной дозы с последующими дозами через 48 часов и 1 неделю.

Ожидается, что исследование с участием когорты 4 будет эффективно лечить сердечное заболевание и/или сердечно-сосудистое заболевание с учетом результатов, полученных до настоящего времени из исследования SAD (пример 1), с учетом результатов, полученных от субъектов когорт 1–3, как описано в примере 2, и с учетом аналитического моделирующего и имитационного анализов и данных, использованных для PD-/ПК-оценки и исходов после схемы введения доз для когорты 4, как описано в данном документе.

Модель и имитация для прогнозирования влияния внутривенно вводимых доз rhLCAT (MEDI6012) на липидные и белковые биомаркеры у субъектов, получающих лечение

Для моделирующего и имитационного анализов, выполненных в данном документе, с целью определения эффективных доз и схем введения доз для в/в введения MEDI6012 исследуемым субъектам в когорте 4, использовали структуру ПК/PD-модели.

Структуру PK/PD-модели задействовали с использованием данных MEDI6012 из исследований SAD и MAD (когорты 1–3) для моделирования и имитации с целью поддержки выбора дозы для когорты 4.

PK/PD-модель была основана на математической модели, разработанной для процесса обратного транспорта холестерина (RCT), включающей PK/PD-данные и опубликованные данные, предназначенные для выбора доз для исследования фазы 2a, включающего ACP501 rhLCAT (публикация Bosch, R. Et al., озаглавленная "A mechanism-based model is able to simultaneously explain the effect of rhLCAT and HDL mimetics on biomarkers of reverse cholesterol transport", представленная на собрании Группы по популяционному подходу в Европе (PAGE) в 2015 году, в Херсониссосе, Крит, Греция). Математическую модель ACP501 разработали для описания эффектов в/в введения rhLCAT и миметиков HDL (HDLm) в отношении биомаркеров RCT у людей. Модель описала зависящую от времени динамику изменения липидных биомаркеров в частицах HDL путем интеграции данных из литературы и исследований двух соединений с различными механизмами действия. Эффекты миметиков HDL и препаратов rhLCAT в отношении RCT были интегрированы в модель, которая описывала как конформационное изменение частицы HDL от пре- β -HDL до α HDL, так и влияние конформационного изменения на отток холестерина.

Методы моделирования

Для моделирования получили данные по MEDI6012, HDL-C, CE и apoA-I из клинических и опубликованных исследований. По аналогии с моделью R. Bosch et al. предполагалось, что

общий HDL-C = HDL-FC + HDL-CE и общий CE = HDL-CE + apoB-CE. Разработали PK-модели, которые были очень похожи на модели для ACP501 и миметиков HDL, а оцениваемые PK-параметры фиксировали в комбинированной модели. Исследование литературных источников выполнили для определения важных путей и реакций, связанных с активностью и функцией фермента LCAT, и для получения значений параметров, специфичных для системы. Разработали PD-модель для MEDI6012, при этом данную модель обновили для описания влияния apoA1 на активность LCAT. И наконец, модель одновременно адаптировали к PD-данным после в/в введения MEDI6012 и apoA1. Модель оценивали и независимо проверяли с использованием двух независимых клинических исследований миметиков HDL.

В связи с моделированием было сделано несколько допущений, как сообщили Bosch, R. et al. на постере собрания PAGE в 2015 году, отмеченном выше, и как показано на фиг. 21A – 21C:

Входные данные по apoA1 (в форме пре- β) отражают его синтез и считаются постоянными. Рециркуляцию apoA1 за счет ремоделирования частиц HDL после выведения не учитывали. В модели лимитирующие стадии, связанные с активностью LCAT, учитывают при высоких дозах инфузии rhLCAT.

Предполагается, что свободный холестерин в ткани находится в избытке по сравнению со свободным холестерином в плазме крови, и поэтому концентрация свободного холестерина в ткани задана постоянным значением.

Предполагается, что отток свободного холестерина можно описать двумя процессами. Один процесс зависит от созревания HDL; другой процесс зависит от концентрации apoA1 в α -HDL и концентрации HDL-FC по сравнению с (постоянной) концентрацией свободного холестерина в ткани.

Скорость выведения HDL-CE, HDL-FC и apoB-CE заданы в значениях из литературы (например, Ouguerram K et al., 2002, A new labeling approach using stable isotopes to study in vivo plasma cholesterol metabolism in humans, *Metabolism*, 51:5-11).

Предполагается, что выведение HDL-C (HDL-CE и HDL-FC) возрастает при повышении общего apoA1 по сравнению с исходным уровнем.

Предполагается, что транспорт CE из HDL к apoB (LDL/VLDL) зависит от концентрации HDL-CE и может быть описан моделью Emax.

LDL/VLDL не рассматривали отдельно, но рассматривали в сочетании с apoB.

Результаты данного моделирования показали, что хотя стимуляция RCT миметиками HDL и rhLCAT была связана с различными механизмами действия, механистическая модель с восемью компартментами была в состоянии адекватно описать как наблюдаемые концентрации rhLCAT в плазме крови, так и динамику соответствующих биомаркеров, включая фракции этерифицированного и неэтерифицированного холестерина в частицах HDL. Как внутренняя, так и внешняя валидация модели с использованием VPC показали адекватное соответствие модели и хорошую прогнозирующую эффективность. AUC HDLc показала высокую корреляцию со степенью перемещения холестерина из периферической ткани и была полезна для сравнения эффектов в отношении RCT миметиков HDL и rhLCAT.

Дозы, прогнозируемые исходы и результаты для когорты 4 исследования MAD

Схема лечения

Дозировка исследуемого лекарственного средства (rhLCAT или MEDI6012) и путь введения для когорты 4 в исследовании MAD следующие: 300 мг rhLCAT или MEDI6012 вводят субъектам в день 1 (нагрузочная доза); вторую дозу 150 мг rhLCAT или MEDI6012 вводят субъектам в момент времени 48 часов (\pm 8 часов) (поддерживающая доза в день 3); и дозу 100 мг rhLCAT или MEDI6012 вводят субъектам через 1 неделю после второй дозы (поддерживающая доза в день 10), при этом все дозы вводят путем в/в струйного введения, как это показано в таблице 6 ниже. Как было отмечено выше, в/в струйное введение относится к внутривенному введению rhLCAT или MEDI6012 (активного лекарственного средства или лекарственного препарата), которое обычно вручную доставляют субъекту в течение относительно короткого периода времени, например и без ограничения, в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–5 минут, или в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты. В/в струйное введение субъекту обычно осуществляют с помощью шприца. В/в струйное введение можно осуществлять в вену или сосуд субъекта посредством введения через шприц в короткую или длинную в/в магистраль.

Таблица 6. Схема лечения в когорте 4 исследования MAD

Когорт а	Доза	Количество доз и частота введения	Коли честв	Рандомизация
4	300 мг в/в струйно (день 1) 150 мг в/в струйно (день 3) 100 мг в/в струйно (день 10)	3 дозы (дни 1, 3, 10)	8	6 MEDI6012:2 плацебо

В когорте 4 исследуемый продукт MEDI6012 вводят субъекту путем в/в струйного введения в течение периода, составляющего примерно 1–3 минуты, включая промывку. Более конкретно, для введения или доставки MEDI6012 субъекту из когорты 4 путем в/в струйного введения в исследовании MAD каждую в/в струйную дозу вводят или доставляют в виде восстановленного MEDI6012 или плацебо с помощью шприца и набора для в/в введения. IVBP не используют для приготовления доз для когорты 4. Несовместимость с MEDI6012 в шприцах (поликарбонатных/полипропиленовых) и магистралях для в/в введения (PE/PVC и PVC без DEHP) отсутствовала. Магистрали для внутривенного введения должны содержать встроенный PES-фильтр 0,22 или 0,2 мкм.

Магистралы, содержащие фильтры на основе целлюлозы, не должны использоваться с MEDI6012, поскольку их не тестировали. Дозу 1 (300 мг) посредством 3-х отдельных инъекций. Каждую инъекцию осуществляют в течение 30 секунд, и после каждой инъекции следует промывка 10 мл физиологического раствора. Дозу 2 (150 мг) посредством 2-х отдельных инъекций. Каждую инъекцию осуществляют в течение 30 секунд, и после каждой инъекции следует промывка 10 мл физиологического раствора. Дозу 3 (100 мг) посредством одной инъекции в течение 30 секунд, после чего следует промывка 10 мл физиологического раствора. Поскольку MEDI6012 и плацебо не содержат консервантов, любое неиспользованное количество должно быть утилизировано. Общее время хранения при использовании после прокола иглой первого (первых) флакона (флаконов) с исследуемым продуктом до начала в/в струйного введения не должно превышать 4 часа при комнатной температуре. Если время хранения выходит за эти рамки, следует приготовить новую дозу из нового (новых) флакона (флаконов).

Как описано выше, нагрузочная доза и поддерживающие дозы для когорты 4 выбирали на основе PK/PD-анализа, который интегрировал PK/PD-данные из исследования SAD MEDI6012 (пример 1) и PD-данные из исследования MAD (пример 2). Проводили имитации с использованием PK/PD-модели RCT на основе предполагаемых PK/PD-параметров для выбора доз для когорты 4 в исследовании MAD, которое характеризовало PK MEDI6012, и диапазон PD-эффектов при введении MEDI6012 в нагрузочной и поддерживающей дозах, вводимых посредством в/в струйного введения. Имитировали PD-эффект от увеличения нагрузочных доз MEDI6012 (160, 200, 240, 280 и 320 мг), вводимых в/в болюсно в течение 1 минуты, с последующими еженедельными поддерживающими дозами 80, 100, 120 и 160 мг. На основе данных моделирования отмечали, что HDL-C повышался более чем на 50% в течение первых 90 минут при введении более высоких доз MEDI6012.

На основании описанного выше PK/PD-моделирования и имитации согласно R. Bosch et al., PD/PK-моделирование и PD/PK-имитация, проведенные для введения доз MEDI6012 в когорте 4, включали нагрузочную дозу 300 мг в день 1; поддерживающую дозу 150 мг в день 3; и поддерживающую дозу 100 мг в день 10. Схему введения доз с нагрузочной дозой, после которой следуют поддерживающие дозы в день 3 и 10 соответственно, рассматривали в качестве оптимальной схемы введения доз, которая поддерживала повышенные уровни HDL-C в течение 1 недели. Выбрали день 3, потому что большинство пациентов с острым MI госпитализируют в течение ≥ 48 часов, а период

полужизни MEDI6012 составляет примерно 48 часов. Целью дозы через 48 часов было пролонгировать повышение уровня apoA1 в условиях острого/подострого MI в течение первых 1–2 недель. Эта схема привела к скорректированным относительно исходного уровням HDL-C >30 мг/дл в течение более 1 недели. Первая неделя после острого MI у пациента имеет решающее значение с точки зрения кардиопротективных и ангиопротективных аспектов терапии. Кроме того, эта схема приводит к раннему повышению уровней apoA1, близких к пиковому, наблюдаемому при более высоких дозах (до 800 мг в/в), используемых в исследовании MEDI6012 с однократным введением в нарастающих дозах, и, следовательно, поддерживает уровни apoA1 в течение > 1 недели. Поддерживающую дозу 100 мг в день 10 выбрали потому, что она поддерживает повышенные уровни HDL-C, apoA1 и/или сложных эфиров холестерина в системе без накопления сложных эфиров холестерина, и ее тестируют, чтобы определить, является ли она подходящей поддерживающей дозой для более длительного введения доз MEDI6012 для будущих исследований. Очевидно, что повышение LDL является вторичным по отношению к накоплению CE в частицах LDL.

Конкретные критерии отбора были ассоциированы с моделирующим и имитационным анализами с целью получения схемы введения доз MEDI6012 для введения субъектам в когорте 4, которая имела, как и ожидалось, успешные результаты и исходы в отношении кардиопротективности, антиатерогенных эффектов и минимальных нежелательных эффектов или их отсутствия. Рассматривали несколько различных кардиопротективных критериев при моделирующем и имитационном анализе и оценке для определения доз, которые будут использоваться для субъектов когорты 4. Один кардиопротективный критерий для моделирования включал: быстрое повышение HDL и apoA1 с первой дозой (данные моделирования, показанные на фиг. 12A и 12B соответственно). Для HDL-C нагрузочная доза 300 мг MEDI6012 приводила к уровню, составляющему примерно 39 мг/дл, к моменту времени 6 часов (фиг. 12A). Для apoA1 нагрузочная доза в 300 мг MEDI6012 приводила к уровню, составляющему примерно 15 мг/дл, к моменту времени 24 часа (фиг. 12B). Второй кардиопротективный критерий для моделирующего анализа включал: поддержание уровней HDL-C и apoA1 в течение 2-недельного периода (данные моделирования, показанные на фиг. 13A и 13B соответственно). На основании данных моделирования определили, что нагрузочная доза 300 мг MEDI6012, после которой следовала доза 150 мг MEDI6012 через 48 часов после нагрузочной дозы, после которой следовала доза 100 мг MEDI6012 в день 10,

поддерживали уровни HDL-C и apoA1 в течение 2 недель, при этом уровень apoA1 поддерживался на уровнях, близких к максимальным, в течение 2 недель (фиг. 13А и 13В).

Кроме того, поддержание высоких уровней HDL-C и/или apoA1 в течение 2-недельного периода после введения дозы MEDI6012 позволяет пациентам с МІ перейти от острой стадии к подострой стадии заболевания и обеспечивает возможность фиброзного восстановления в ткани сердца, что приводит к пролиферации кардиомиоцитов и замещению мертвых кардиомиоцитов. Третий кардиопротективный критерий для моделирующего анализа включал: повышение субфракции HDL2 (HDL2-холест.) HDL, что способствует кардиопротективному и антиатерогенному эффектам при более высоких уровнях (по сравнению с уровнями субфракции HDL3-холестерина меньшей плотности). На фигуре 14А показано повышение HDL2 при различных дозах MEDI6012, вводимых в/в или п/к. Прогнозировали, что при дозе MEDI6012 240 мг HDL2 повысится на примерно 55 мг/дл. На фиг. 14В показано, что HDL2 является подвидом HDL, который несет на себе и принимает больше сфингозин-1-фосфата (S1P) по сравнению с HDL-3, как сообщают Sattler, K. et al. (2015, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 66:1470-1485).

Рассматривали несколько различных атеропротективных (антиатерогенных) критериев в моделирующем и имитационном анализах и оценке с целью определения доз, в частности поддерживающих доз, которые будут использоваться для субъектов когорты 4. Один антиатерогенный критерий для моделирующего анализа включал: достижение уровней HDL-C более 60 мг/дл (исходный уровень (BL) = 35) в сыворотке крови/плазме крови. С помощью моделирования прогнозировали, что при достижении уровней HDL-C более 60 мг/дл нагрузочная доза MEDI6012 не оказала заметного влияния на уровни равновесного состояния HDL-C, следовательно, существовала необходимость в поддерживающей дозе MEDI6012 примерно 100 мг. Это показано в результатах, представленных на фиг. 15А – 15D. Результаты исследования показали, что уровни HDL-C, превышающие приблизительно 60 мг/дл, такие как 65–80 мг/дл, не обеспечивают значительно более сильные кардиопротективные или атеропротективные эффекты для субъектов, чем уровень 60 мг/дл. Другой антиатерогенный критерий для моделирующего анализа включал: поддержание уровня apoA1 в равновесном состоянии в ходе введения поддерживающих доз. С помощью моделирования прогнозировали, что все дозы MEDI6012 (то есть 80 мг, 100 мг, 120 мг и 160 мг) привели к уровням равновесного состояния apoA1. Это показано в результатах, представленных на фиг. 16А – 16D.

В моделирующем анализе также учитывали нежелательный эффект накопления сложных эфиров холестерина в LDL при различных поддерживающих дозах MEDI6012. С помощью моделирования и имитации прогнозировали, что доза MEDI6012 в пределах 80–100 мг предотвращает слишком большое накопление CE (фиг. 18A – 18D). Основываясь на моделировании, обнаружили небольшое изменение в уровнях HDL-CE при различных поддерживающих дозах, что указывает на то, что накопление сложных эфиров холестерина происходило не в HDL (фиг. 19A – 19D). Хотя данные LDL не включали в моделирующий анализ *per se*, моделирующий анализ был основан на наблюдении за результатами, полученными в исследовании SAD, которое выявило повышение уровней LDL при дозах MEDI6012 ≥ 240 мг, а также за результатами исследования MAD, которое выявило, что MEDI6012 в однократной дозе 120 мг повышал уровни LDL, а многократные дозы 40 мг или 120 мг повышали LDL-C, но эти дозы не вызывали повышения apoB. При поддерживающих дозах MEDI6012 ≥ 120 мг уровни LDL, по-видимому, повышаются, а CE накапливается при многократном введении доз; однако наблюдали минимальное накопление CE при 100 мг и минимальную потерю CE при 80 мг. Таким образом, на основе HDL-CE и наблюдаемых профилей LDL-C определили, что CE накапливался в LDL, а не в HDL, при высоких поддерживающих дозах, что обеспечивало приемлемую поддерживающую дозу, особенно для более длительного введения доз, для использования у субъектов в когорте 4 без накопления CE в LDL, например, без ограничения дозу ≤ 120 мг.

Другим нежелательным эффектом, рассматриваемым в клинических исследованиях, была ситуация, при которой наблюдали отсутствие частиц HDL очень низкой плотности (VVL) (>17 нМ) и мало частиц HDL очень низкой плотности (VL) (12,2–17 нМ). Когда частицы HDL увеличиваются в размерах, снижается их функция. Фермент LCAT, т. е. MEDI6012, играет роль в превращении субфракции частиц HDL3 HDL в частицы HDL2, которые проявляют более выраженные кардиопротективные и атеропротективные свойства (фиг. 20). Моделирование показало, что MEDI6012 в дозе 240 мг, вызывал повышение VVL-HDL на 2 мг/дл и повышение VL-HDL на 17 мг/дл. MEDI6012 в дозе 80 мг приводил к отсутствию повышения VVL-HDL и к повышению VL-HDL на 2 мг/дл. Моделирующие исследования также предоставили информацию, которая позволила определить те дозы MEDI6012, которые были бы подходящими для избегания значительного превращения частиц VL-HDL в частицы VVL-HDL (фиг. 20).

Таким образом, на основе строгих данных моделирования и имитации и точности, ожидаемой от этих данных, а также на основе данных, полученных в ходе клинических исследований (а также доклинических исследований), ожидается, что предлагаемые схемы введения доз после трех доз MEDI6012 будут хорошо переноситься, при этом собранные PK/PD-данные соответствуют целям исследования. Критерии отбора, использованные в моделирующем и имитационном анализе, предусматривали ожидаемое повышение HDL-C, apoA1, CE и других PD-маркеров, которое было бы эффективно в лечении сердечных или сердечно-сосудистых заболеваний у субъекта и/или их симптомов без вредных побочных эффектов. Критерии отбора также позволили определить схему лечения, которая должна была обеспечить терапевтическую эффективность, ассоциированную с механизмом действия фермента LCAT. Продолжительность наблюдения в течение 4 недель после введения дозы считается подходящей для оценки обратимости потенциальных результатов безопасности и для характеристики потенциальной иммуногенности MEDI6012, когда произошла полная концентрация (PK-масса) из сыворотки крови и PD-биомаркеры вернулись к значениям исходного уровня. Дополнительная продолжительность наблюдения в 4 недели после начальных 4 недель является подходящей для ADA-положительных субъектов для гарантирования того, что не происходит снижение HDL-C из-за ADA/nAb.

В частности, на основе результатов моделирования и имитации, описанных выше, эффективность и достижение определенных нагрузочных и поддерживающих доз MEDI6012 могут прогнозировать достижение успешного исхода исследования с многократными дозами с участием когорты 4 и, таким образом, подтвердить корреляцию между ожидаемыми исходами лечения и вероятностью того, что введение доз и схемы введения доз обеспечивают прогнозируемые и ожидаемые результаты. На основании анализов моделирования, а также наблюдаемых данных прогнозировали, что нагрузочная доза (LD) MEDI6012 300 мг, после которой следовали поддерживающие дозы (MD) 150 мг и/или 100 мг, приводит к следующим кардиопротективным критериям: (i) быстрое повышение HDL и/или apoA1 при нагрузочной дозе (300 мг LD MEDI6012 приводит к уровню HDL-C 39 мг/дл через 6 часов и к уровню apoA1 15 мг/дл через 24 часа); (ii) поддержание уровней HDL-C и apoA1 в течение 2-недельного периода (нагрузочная доза MEDI6012 300 мг, после которой следовали доза 150 мг в момент времени 48 часов и затем доза 100 мг в день 10, поддерживает протективные уровни как HDL-C, так и apoA1 в течение 2 недель, при этом уровни apoA1 поддерживаются на максимальных уровнях в

течение 2 недель); и (iii) повышение уровней HDL2 (MEDI6012 в дозе 100 мг повышает уровни HDL2 на ~55 мг/дл).

Также прогнозировали, что нагрузочная доза (LD) MEDI6012 300 мг, за которой следовали поддерживающие дозы (MD) 150 мг и/или 100 мг, приводит к следующим антиатерогенным критериям: (i) достижение уровней HDL-C >60 мг/дл (BL=35), (поддерживающая доза 100 мг поддерживает HDL-C на уровне 60–70 мг/дл с учетом исходных (BL) уровней 35 мг/дл; (ii) поддержание уровня равновесного состояния apoA1; снижение малых частиц LDL (нагрузочная доза 300 мг MEDI6012 снижает уровень малых LDL-P на 80%, а поддерживающие дозы снижают LDL-P на 40–50% или больше); (iii) общий отток холестерина и отток с помощью АТФ-связывающего кассетного транспортера (ABCA1), также известного как регуляторный белок оттока холестерина (CERP), как ожидается, повышается при нагрузочной дозе MEDI6012 в количестве 300 мг.

Также прогнозировали, что нагрузочная доза (LD) MEDI6012 300 мг, после которой следовали поддерживающие дозы (MD) 150 мг и/или 100 мг, защищает от нежелательных эффектов после введения дозы. Моделирование прогнозировало отсутствие ожидаемого повышения apoB; отсутствие повышения накопления LDL-C или сложных эфиров холестерина в LDL (LDL-CE) (минимальное повышение LDL или LDL-CE или его отсутствие при поддерживающих дозах MEDI6012); и отсутствие повышения VVL HDL, и незначительное повышение VL-HDL (нагрузочная доза дает повышение VL-HDL и минимальное повышение VVL-HDL; поддерживающая доза 100 мг MEDI6012 приводит к повышению на примерно 2 мг/дл VL-HDL без повышения VVL-HDL). Данные моделирования и результаты, описанные выше, служат надежными прогностическими факторами, которые прогнозируют с точностью и достоверностью, а также подтверждают исходы фактических способов лечения, разработанных для применения доз и схем введения доз активного ингредиента MEDI6012, как это подробно описано в данном документе.

Изменение схемы лечения

Как описано выше, когорту 4 исследования MAD разработали таким образом, чтобы 6 испытуемых субъектов получали rhLCAT или MEDI6012, а 2 оставшихся субъекта получали дозу плацебо. Тем не менее, имела место проблема рандомизации, и 2 субъектам потребовалась рандомизация вручную. Это привело к тому, что 7 субъектов рандомизировали в группу rhLCAT или MEDI6012 и только 1 субъекта рандомизировали

в группу плацебо. Таким образом, фактическая схема лечения является такой, как приведено ниже в таблице 6а.

Таблица 6а. Фактическая схема лечения в когорте 4 исследования MAD

Когорт а	Доза	Количество доз и частота введения	Колич ество	Рандомизация
4	300 мг в/в струйно (день 1) 150 мг в/в струйно (день 3) 100 мг в/в струйно (день 10)	3 дозы (дни 1, 3, 10)	8	7 MEDI6012:1 плацебо

Кроме того, субъекту в группе плацебо вместо дозы плацебо в день 10 вводили MEDI6012 в дозе 100 мг, а одному из испытуемых субъектов, рандомизированному в группу получения MEDI6012 в дозе 100 мг в день 10, фактически вводили дозу плацебо вместо MEDI6012. В таблице 6б ниже показаны РК-данные от субъекта из группы плацебо (субъект 20030810018) и испытуемого субъекта, рандомизированного в группу получения MEDI6012 (субъект 20030810020). Данный анализ специфичен для MEDI6012. Следовательно, субъект в группе плацебо, которому не вводили MEDI6012, не должен иметь значения, отличные от находящихся BLQ<2500 (ниже предела количественного определения).

Как показано в таблице 6б, после в/в струйного введения в день 10 и двух последующих точек отбора проб субъект в группе плацебо демонстрирует уровни MEDI6012 в своей плазме крови. Кроме того, в таблице 6б показано, что в день 10 испытуемому субъекту, рандомизированному в группу получения MEDI6012, вместо него вводят дозу плацебо, поскольку MEDI6012 не обнаруживается в его плазме крови. Кроме того, считается, что субъект в группе плацебо прекратил прием статинов с 10 дня и далее, поэтому уровни LDL-C и ApoB начинают повышаться после дня 10.

Таблица 6б. РК-данные от субъекта в группе плацебо и испытуемого субъекта

	Стандарт времени	Субъект в группе плацебо (Субъект 20030810018)	Субъект в группе MEDI6012 (Субъект 20030810020)
День 1 (300 мг MEDI6012 или плацебо)	До введения дозы	BLQ<2500	BLQ<2500
	30 мин после введения дозы	BLQ<2500	Нет образца

	Завершение в/в струйного введения	BLQ<2500	Нет образца
	90 мин после введения дозы	BLQ<2500	Нет образца
	4 ч после введения дозы	BLQ<2500	49000
	12 ч после введения дозы	BLQ<2500	38100
	24 ч после введения дозы	BLQ<2500	27200
День 3 (150 мг MEDI6012 или плацебо)	До введения дозы	BLQ<2500	16900
	Завершение в/в струйного введения	BLQ<2500	Нет образца
	6 ч после введения дозы	BLQ<2500	39600
	48 ч после введения дозы	BLQ<2500	14800
День 10 (100 мг MEDI6012 или плацебо)	До введения дозы	BLQ<2500	BLQ<2500
	Завершение в/в струйного введения	8820	BLQ<2500
	12 ч после введения дозы	11000	BLQ<2500
	24 ч после введения дозы	10700	BLQ<2500
	96 ч после введения дозы	Нет образца	Нет образца
	168 ч после	BLQ<2500	BLQ<2500

	введения дозы		
	День 24	BLQ<2500	BLQ<2500
	День 38	BLQ<2500	BLQ<2500
	День 66	BLQ<2500	BLQ<2500

Результаты исследования

Анализ результатов для когорты 4 исследования MAD показал, что введение MEDI6012 исследуемым субъектам в соответствии с данной схемой введения доз, а именно введение MEDI6012 в дозе 300 мг субъектам в день 1 (нагрузочная доза); введение второй дозы MEDI6012 150 мг субъектам в момент времени 48 часов (поддерживающая доза в день 3); и введение дозы MEDI6012 100 мг субъектам через 1 неделю после второй дозы (поддерживающая доза в день 10), причем все дозы вводят путем в/в струйного введения, приводит к повышению HDL-C и ApoA1, что согласуется с механизмом действия фермента LCAT (фиг. 22А и 22В, и фиг. 25А и 25В, и таблицы 6с–е). Важно отметить, что каждый субъект сам по себе является контролем при корректировке относительного исходного уровня.

Таблица 6с. Скорректированная относительно исходного уровня AUC (0-96ч) HDL-C; популяция, фактически получавшая лечение (группа с в/в струйным введением)

№ дозы		В/в струйное введение плацебо	В/в струйное введение MEDI6012
		(N=1)	(N=7)
После введения дозы 1	N	1	7
	Среднее значение (SD)	-675,69 (н/п)	4125,69 (552,08)
	Медианное значение	-675,69	4402,63
После введения дозы 3	N	1	7
	Среднее значение (SD)	266,68 (н/п)	1803,12 (1684,32)
	Медианное значение	266,68	658,73

№ дозы		В/в струйное введение плацебо (N=1)	В/в струйное введение MEDI6012 (N=7)
	значение		

Таблица 6d. Скорректированная относительно исходного уровня AUC (0-168ч) HDL-C; популяция, фактически получавшая лечение (группа с в/в струйным введением)

№ дозы		В/в струйное введение плацебо (N=1)	В/в струйное введение MEDI6012 (N=7)
После введения дозы 1	N	1	7
	Среднее значение (SD)	-1561,29 (н/п)	6507,86 (1403,94)
	Медианное значение	-1561,29	6296,23
После введения дозы 3	N	1	7
	Среднее значение (SD)	3444,21 (н/п)	3065,88 (2487,56)
	Медианное значение	3444,21	2938,86

Таблица 6e. Скорректированная относительно исходного уровня AUC (0-96ч) ApoA1; популяция, фактически получавшая лечение (группа с в/в струйным введением)

№ дозы		В/в струйное введение плацебо (N=1)	В/в струйное введение MEDI6012 (N=7)
После введения дозы 1	N	1	7
	Среднее значение (SD)	-1208,16 (н/п)	1669,34 (691,14)

№ дозы		В/в струйное введение плацебо (N=1)	В/в струйное введение MEDI6012 (N=7)
	Медианное значение	-1208,16	2007,14
После введения дозы 3	N	1	7
	Среднее значение (SD)	-20,42 (н/п)	2399,42 (2611,21)
	Медианное значение	-20,42	744,70

Наблюдали повышение уровней LDL (фиг. 23А и 23В и таблица 6f), а также исходное снижение apoB, который вернулся к исходному уровню после третьей дозы (фиг. 24А и 24В и таблица 6g). В целом имело место повышение содержания холестерина LDL, но отсутствие повышения количества частиц LDL.

На **фиг. 28А – 28D** представлены графики размаха для площади под кривой зависимости «концентрация-время» (AUC), показывающие уровни HDL-C, ApoA1, LDL-C и ApoB у субъектов в когортах 1–4 после введения MEDI6012, как описано для исследования MAD в примерах 2 и 3 данного документа. Наблюдали дозозависимое повышение HDL-C и ApoA1 (см. фиг. 28А и 28В). Повышение LDL-C наблюдали после первой дозы MEDI6012 120 мг и после третьей дозы как 40 мг, так и 120 мг (см. фиг. 28С). Повышение LDL-C также наблюдали как при дозе MEDI6012 300 мг (когорты 3), так и в когорте 4 (в/в струйное введение) исследования MAD. Однако повышение LDL-C не считали вредным ввиду статических (или сниженных) уровней ApoB, которые одновременно измеряли у субъектов (см. фиг. 28D). Не наблюдали повышения apoB, что указывает на то, что отсутствовало вредное местное повышение количества частиц LDL, связанное с дозами MEDI6012 и схемами введения доз.

Таблица 6f. Скорректированная относительно исходного уровня AUC (0-96ч) LDL-C (прямое измерение); популяция, фактически получавшая лечение (группа с в/в струйным введением)

№ дозы		В/в струйное введение плацебо (N=1)	В/в струйное введение MEDI6012 (N=7)

№ дозы		В/в струйное введение плацебо (N=1)	В/в струйное введение MEDI6012 (N=7)
После введения дозы 1	N	1	7
	Среднее значение (SD)	-616,78 (н/п)	890,25 (840,94)
	Медианное значение	-616,78	871,57
После введения дозы 3	N	1	7
	Среднее значение (SD)	-78,79 (н/п)	1364,12 (2375,93)
	Медианное значение	-78,79	302,30

Таблица 6g. Скорректированная относительно исходного уровня AUC (0-96ч) Ар0В; популяция, фактически получавшая лечение (группа с в/в струйным введением)

№ дозы		В/в струйное введение плацебо (N=1)	В/в струйное введение MEDI6012 (N=7)
После введения дозы 1	N	1	7
	Среднее значение (SD)	-651,36 (н/п)	-681,99 (543,82)
	Медианное значение	-651,36	-779,18
После введения дозы 3	N	1	7
	Среднее значение (SD)	-239,17 (н/п)	73,0 (864,30)
	Медианное	-239,17	-209,54

№ дозы		В/в струйное введение плацебо (N=1)	В/в струйное введение MEDI6012 (N=7)
	значение		

Как обсуждалось ранее, ряд сообщений показал, что apoB является лучшим прогностическим фактором риска возникновения CHD, чем LDL-C, как у мужчин, так и у женщин, и что количество атерогенных частиц, таких как apoB, является более важным показателем риска, чем количество холестерина (LDL-C), которое транспортируется в этих частицах. (обзор в Vaverkova, H., 2011, *Clin Lipidology*, 6(1):35-48; Sniderman, AD et al., 2003, *Lancet*, 361:777-780). Поскольку все потенциально атерогенные липопротеиновые частицы содержат только одну молекулу apoB и различные количества холестерина, apoB служит лучшим маркером количества атерогенных липопротеиновых частиц, чем LDL-C. Следовательно, незначительное повышение или отсутствие повышения apoB у субъектов, которым вводили LCAT (MEDI6012), как это показано в данном документе, свидетельствует о протективном лечении с массой преимуществ, несмотря на наблюдаемое повышение уровня LDL-C.

На фиг. 26A показано сравнение скорректированных относительно исходного уровня уровней HDL-C, полученных с помощью моделирующего/имитационного анализов (сплошные и пунктирные линии) с наблюдаемыми данными (отдельные точки данных: круги и квадраты), полученными в результате введения MEDI6012 в соответствии со схемой введения доз в когорте 3 и когорте 4 исследования MAD (от дня 0 до дня 70). Когда наблюдаемые данные для когорты 4 показаны отдельно, можно видеть три различных пика HDL-C после введения MEDI6012 (фиг. 26B). На фиг. 26C показаны данные для дней с 0 по 5 из фиг. 26A. Из сравнения этих данных видно, что исходное моделирование, выполненное на основании данных из исследования SAD и из когорт 1–2 исследования MAD, в значительной степени прогнозирует фактические наблюдаемые данные.

На фиг. 27A – D показаны наблюдаемые результаты по всем когортам (когортам 1–4) исследования MAD, как это определено в примерах 2 и 3 в данном документе. На фиг. 27A показано наблюдаемое изменение от исходного уровня концентрации HDL-C в сыворотке крови с течением времени в когортах 1–4 исследования MAD. На фиг. 27B показано наблюдаемое изменение от исходного уровня концентрации ApoA1 в сыворотке крови с течением времени в когортах 1–4 исследования MAD. На фиг. 27C показано

наблюдаемое изменение от исходного уровня концентрации LDL-C в сыворотке крови (прямое измерение) с течением времени в когортах 1–4 исследования MAD. На фиг. 27D показано наблюдаемое изменение от исходного уровня концентрации ApoB в сыворотке крови с течением времени в когортах 1–4 исследования MAD.

Пример 4

Рандомизированное односторонне слепое плацебо-контролируемое исследование фазы 2b для оценки безопасности и эффективности MEDI6012 при остром инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI)

Дизайн исследования

Рандомизированное односторонне слепое плацебо-контролируемое исследование фазы 2b разработали для оценки безопасности и эффективности MEDI6012 в отношении уменьшения площади инфаркта миокарда (МИ) у пациентов с острым STEMI по сравнению с плацебо и в дополнение к стандартной терапии. В данном исследовании рандомизируют до 414 субъектов в примерно 40 центрах. Ожидается, что до 60% субъектов имеют кровоток степени 0–1 по классификации Тромболизиса при инфаркте миокарда (TIMI) и им проводили MPT. Таким образом, цель заключается в том, чтобы 252 субъекта завершили исследование и их включили в анализы первичного исхода.

Субъектов рандомизируют в соотношении 1:1 в одну из 2 схем (схема с 2 дозами или схема с 6 дозами). В рамках каждой схемы введения доз субъектов рандомизируют в соотношении 2:1 для получения MEDI6012 или плацебо. В том случае, если схему введения доз прекращают использовать при промежуточном анализе, субъектов в дальнейшем рандомизируют при соотношении 1:1 в группу получения MEDI6012 или плацебо для оставшейся схемы введения доз. Хотя в исследование включают пациентов с острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI) с поражением всех трех сосудистых бассейнов, STEMI с передней локализацией ограничен <50% субъектов, включенных в исследование. STEMI с передней локализацией определяют, когда пораженным сосудом является главный ствол левой коронарной артерии или левая передняя нисходящая артерия или их ветви (включая аномальные ответвления). При поступлении в больницу для неотложной помощи при STEMI пациенты проходят скрининг на пригодность к включению в исследование. После информированного согласия/устного согласия (в соответствии с требованиями местного совета по вопросам этики) при первой инфузии исследуемого продукта субъекты получают нагрузочную дозу исследуемого продукта посредством внутривенного (в/в) струйного введения до

первичного чрескожного коронарного вмешательства (PCI, день 1), предпочтительно за 10 минут до раздувания баллона в пораженном сосуде. Кроме того, всем субъектам рекомендуется начинать терапию статинами высокой интенсивности как можно раньше и в соответствии с местными стандартами. В дни 1–3 субъекты дают письменное информированное согласие на остальные процедуры исследования, которые включают СМР, инфузии исследуемого продукта, отбор крови и тестирование и в некоторых случаях коронарную СТА.

В исследовании тестируют две схемы введения доз. В группах схемы с 2 дозами первую дозу MEDI6012 вводят до первичного PCI, а вторую дозу вводят через 48 часов (\pm 8 часов), причем все дозы вводят в ходе визита в стационар. В группах схемы с 6 дозами первую дозу MEDI6012 вводят до первичного PCI, а вторую дозу вводят через 48 часов \pm 8 часов, причем обе дозы вводят в ходе визита в стационар. После этих доз следуют 4 дополнительные еженедельные дозы (\pm 1 день), которые вводят в амбулаторных условиях.

Оцениваемые результаты исследования включают гипотезу о том, что введение MEDI6012 в исследуемых дозах уменьшает инфаркт миокарда по сравнению с плацебо; улучшает систолическую функцию (фракцию выброса (EF) левого желудочка); вызывает регрессию и уменьшает прогрессирование некальцинированных коронарных бляшек по сравнению с плацебо; демонстрирует приемлемый профиль безопасности и иммуногенности у пациентов с острым STEMI; уменьшает ишемически-реперфузионное повреждение и предотвращает нежелательное ремоделирование левого желудочка (LV).

Целевая популяция исследования включает взрослых мужчин или женщин в возрасте 30–80 лет, которые поступают в больницу с диагнозом острого STEMI на ЭКГ в 12 отведениях с запланированным первичным PCI в течение 6 часов после появления самого последнего симптома (т. е. постоянные симптомы в течение менее 6 часов). Женщин детородного возраста исключают.

Группы и схемы лечения

1) схема с 2 дозами с рандомизацией 2:1 на следующие виды лечения:

MEDI6012 300 мг в/в струйно в день 1 и 150 мг в/в струйно в день 3 (48 часов (\pm 8 часов)), плацебо внутривенно струйно в дни 1 и 3 (48 часов (\pm 8 часов));

2) схема с 6 дозами с рандомизацией 2:1 на следующие виды лечения:

MEDI6012 300 мг в/в струйно в день 1, 150 мг в/в струйно в день 3 (48 часов (\pm 8 часов)) и 100 мг в дни 10, 17, 24 и 31;

3) плацебо в/в струйно в день 1, день 3 (48 часов (\pm 8 часов)) и дни 10, 17, 24 и 31.

В исследовании группы лечения MEDI6012 включают 138 зарегистрированных субъектов, чтобы гарантировать, что по меньшей мере 82 пациента пройдут лечение и процедуры исследования с основной конечной точкой согласно определению "популяция первичного анализа, выполнившая требования протокола". Каждая группа плацебо включает 69 субъектов на каждую схему введения доз, поэтому 138 пациентов получали плацебо (82 пациента прошли лечение и процедуры исследования с основной конечной точкой). "Популяция, сформированная в соответствии с назначаемым лечением (ИТТ)" включает всех рандомизированных субъектов. "Популяция, фактически получающая лечение" включает всех рандомизированных субъектов, получающих по меньшей мере 1 дозу исследуемого продукта. «Популяция для анализа основной эффективности» включает всех рандомизированных субъектов, получающих полный курс лечения исследуемым продуктом с степенью кровотока 0 или 1 по классификации TIMI. "Популяция для анализа эффективности – TIMI 2–3" включает всех рандомизированных субъектов, получающих полный курс лечения исследуемым продуктом с степенью кровотока 2 или 3 по классификации TIMI. "Популяция для анализа эффективности – TIMI 0–3" включает всех рандомизированных субъектов, получающих полный курс лечения исследуемым продуктом с степенью кровотока от 0 до 3 по классификации TIMI. "Популяция анализа СТА" включает рандомизированных субъектов схемы с 6 дозами, получающих полный курс лечения исследуемым продуктом.

Статистические методы

Размер выборки

В общей сложности 82 субъекта на группу обеспечивают 80% мощности выявления уменьшения размера инфаркта на 25% в группе с 2 дозами MEDI6012 и группе плацебо, а также в группе с 6 дозами MEDI6012 и группе плацебо, с двухсторонним уровнем значимости 0,05, предполагающим коэффициент вариации (CV) 0,65. Ожидают уровень исключения из популяции для анализа основной эффективности, составляющий 40%, из-за степени кровотока 2 или 3 согласно TIMI в пораженной артерии на исходной ангиографии и по другим причинам для последующего исключения или выбывания (Botker HE et al, 2010, *Lancet*, 375:727–734. Hausenloy DT, et al., 2013, *Cardiovascular Research*, 98, 7–27), при этом всего требуется 138 субъектов на группу. При таком размере выборки мощность выявления абсолютной разницы 5% в EF между группой MEDI6012 и

группой плацебо составляет 88% при условии стандартного отклонения 10%. Для вторичной конечной точки регрессии/прогрессирования некальцинированных коронарных бляшек мощность выявления будет составлять > 80% для выявления изменения объема некальцинированных бляшек на 12 мм³ от индикаторной СТА до СТА 10–12 недель среди субъектов в группе доз MEDI6012 и субъектов в группе плацебо, предполагая общее стандартное отклонение 25% и выбывание 20%.

Статистические анализы:

основную конечную точку эффективности размера инфаркта анализируют с помощью критерия Стьюдента с логарифмическим преобразованием данных, основанных на популяции для анализа первичной эффективности. Конечную точку в виде размера инфаркта также анализируют на основе популяции для анализа эффективности – ТИМІ 2–3, популяции для анализа эффективности – ТИМІ 0–3 и популяции ИТТ. Фракцию выброса, массу миокарда и объемы левого желудочка анализируют аналогично размеру инфаркта без логарифмического преобразования данных. Изменение по сравнению с индикаторной СТА в объеме некальцинированных бляшек анализируют с использованием критерия Стьюдента, основанного на популяции анализа СТА. Площадь под кривыми креатинкиназы 0–48 часов с логарифмическим преобразованием анализируют с использованием критерия Стьюдента, основанного на популяции, фактически получающей лечение.

Анализ безопасности основан на популяции, фактически получающей лечение. Сбор информации о нежелательных явлениях (АЕ) и серьезных нежелательных явлениях (SAE) начинают после того, как субъект подписывает документ информированного согласия, и продолжают до завершения визитов исследования. АЕ, возникшим после начала лечения (TEAE), и SAE, возникшим после начала лечения (TESAE) присваивают код согласно последней версии Медицинского словаря терминов для нормативной деятельности (MedDRA), и обобщают тип, частоту, тяжесть и связь с исследуемым продуктом. Специфические АЕ подсчитывают однократно для каждого субъекта с целью расчета процентов. Кроме того, если одно и то же АЕ встречается несколько раз в пределах конкретного субъекта, сообщают о наиболее высокой степени тяжести и уровне наблюдаемой взаимосвязи. Все TEAE и TESAE обобщают в целом, а также классифицируют по классу систем и органов и предпочтительному термину MedDRA.

Результаты показателей жизнедеятельности обобщают с использованием описательной статистики в каждый момент времени по группам лечения. Параметры

электрокардиограммы (ЭКГ) также оценивают и обобщают по группе лечения. Частоту и титр антител к лекарственному средству (ADA) сводят в таблицу для каждой группы лечения. Образцы с положительным результатом по ADA тестируют и анализируют в отношении уровня pAb, при этом их обобщали аналогично.

Промежуточный анализ:

запланированы два промежуточных анализа. Целью первого промежуточного анализа является оценка нецелесообразности лечения и потенциальное прекращение схемы введения доз. Его проводят после того, как 30% популяции первичного анализа завершили их последний визит исследования. Второй промежуточный анализ планируют для ускорения принятия решения о будущих вариантах разработки MEDI6012 и проводят после того, как 60% участников завершили свой последний визит исследования.

Способы распределения в группы лечения

Использовали интерактивную систему, обеспечивающую доступ путем голосового ответа и через интернет (IXRS), для рандомизации субъектов в группу и схему лечения и присвоения кодовых номеров заслепленным комплектам исследуемого продукта. Субъект считается рандомизированным в исследование, когда исследователь уведомляет IXRS о том, что субъект соответствует критериям включения, а IXRS предоставляет субъекту заслепленные комплекты исследуемого продукта с присвоенными кодовыми номерами.

Субъектов рандомизируют в соотношении 1:1 в одну из 2 схем (схема с 2 дозами или схема с 6 дозами). В рамках каждой схемы введения доз субъектов рандомизируют в соотношении 2:1 для получения MEDI6012 или плацебо:

- MEDI6012, схема с 6 дозами (N = 138);
- Плацебо, схема с 6 дозами (N = 69);
- MEDI6012, схема с 2 дозами (N = 138);
- Плацебо, схема с 2 дозами (N = 69).

В том случае, если схему введения доз прекращают использовать при промежуточном анализе, субъектов рандомизируют при соотношении 1:1 в группу получения MEDI6012 или плацебо для оставшейся схемы введения доз.

Если происходит задержка в использовании исследуемого продукта, так что он не вводится в течение указанного периода времени, необходимо немедленно уведомить медицинского наблюдателя.

Распределение пациентов с МІ с передней и отличной от передней локализации контролируют в течение всего исследования. Цель состоит в том, чтобы ~50%

окончательной рандомизированной популяции составляли субъекты с МІ с передней локализацией. Таким образом, число субъектов с МІ с передней локализацией контролируют посредством IXRS.

Обоснование для конечных точек

Основная конечная точка: размер инфаркта в процентах от массы левого желудочка, измеренный с помощью магнитно-резонансной томографии сердца с отсроченным контрастированием (CMR) через 10–12 недель после МІ.

Обоснование: CMR считается золотым стандартом для оценки размера инфаркта и считается наиболее важной конечной точкой в испытаниях кардиопротективности (Hausenloy DT, et al., 2013, *Cardiovascular Research*, 98:7–27). Размер инфаркта, измеренный через 10–12 недель, отражает окончательную площадь инфаркта после ремоделирования левого желудочка (LV) и будет отражать как ранние, так и поздние эффекты лечения с помощью MEDI6012 (Mather AN, et al., 2011, *Radiology*, 261(1):116-26). Размер инфаркта измеряют с помощью МРТ с отсроченным контрастированием гадолинием как размер инфаркта в граммах, разделенный на массу LV в граммах. Размер инфаркта является независимым прогностическим фактором вторичных серьезных нежелательных сердечно-сосудистых явлений, включая смертность и госпитализацию по причине сердечной недостаточности (Stone GW, et al., 2016, *J Am Coll Cardiol.*, 67(14):1674-83; Wu E, et al., 2008, *Heart*, 94:730–736.) На каждые 5% увеличения площади инфаркта на 19% повышается риск смертности от всех причин и на 20% повышается риск госпитализации по причине сердечной недостаточности (Stone GW, et al., 2016, *J Am Coll Cardiol.*, 67(14):1674-83).

Вторичные конечные точки:

фракцию выброса (EF) измеряют с помощью МРТ через 10–12 недель после МІ по сравнению с плацебо.

Обоснование: фракция выброса является хорошо известной мерой систолической функции LV. Кроме того, фармакологические улучшения EF связывали со снижением смертности и госпитализаций по причине сердечной недостаточности (Kramer D, et al., 2010, *J Am Coll Cardiol.*, 56:392–406; Breathett K, et al., 2016, *Circ Heart Fail.*, 9:e002962). EF рассчитывают как соотношение ударного объема и конечного диастолического объема.

Изменение по сравнению с индикаторной СТА объема некальцинированных бляшек (NCPV) измеряют к концу исследования с помощью СТА в коронарных артериях через 10–12 недель после МІ по сравнению с плацебо.

Обоснование: при изучении острого коронарного синдрома (ACS), в частности non-STEMI ACS, объем некальцинированных бляшек (NCPV) является лучшим прогностическим фактором основных нежелательных сердечных явлений (MACE) по сравнению с шкалой оценки кальциноза Агатстона и общим объемом бляшек. NCPV измеряют во всех сосудах диаметром ≥ 2 мм и выражают в мм³. Участки коронарных сосудов со стентами или считающиеся не поддающимися анализу по какой-либо иной причине исключают из анализа.

Площадь под кривыми креатинкиназы (СК) 0–48 часов

Обоснование: данный результат помогает определить, вызван ли эффект MEDI6012 главным образом первой дозой или многократными дозами, полученными в течение 6-недельного периода.

Масса миокарда и конечный систолический и конечный диастолический объемы LV

Обоснование: объемы LV и масса миокарда являются общепризнанными прогностическими факторами клинических исходов, и их будут измерять с помощью кардиоваскулярной магнитно-резонансной томографии (CMR). Объемы желудочка и масса миокарда измеряют в мл и г соответственно и приводят относительно площади поверхности тела.

Безопасность и переносимость MEDI6012 измеряют по частоте нежелательных явлений, возникших после начала лечения (TEAE), и серьезных нежелательных явлений, возникших после начала лечения (TESAE), а также по антителам к лекарственному средству (ADA) и нейтрализующим антителам с течением времени до последнего визита исследования в дни 70–84.

Обоснование: дополнительные данные по безопасности и переносимости поддерживают дальнейшую разработку лекарственного средства.

PK и иммуногенность, измеренные по массе LCAT и ADA

Обоснование: дополнительные PK-данные и данные по иммуногенности поддерживают обоснованность дозы в будущих исследованиях и дальнейшей разработке лекарственного средства.

Эксплоративные конечные точки:

Объем некальцинированных атеросклеротических бляшек в аорте.

Обоснование: MEDI6012 потенциально может вызывать регресс атеромы в сосудах вне сердца. Во время коронарного СТА; визуализируют корень аорты, проксимальную часть

восходящей дуги аорты и большую часть нисходящей дуги грудной аорты. Подобно коронарным артериям, в аорте измеряют объем некальцинированных атеросклеротических бляшек, чтобы определить, может ли MEDI6012 вызвать регресс атеромы за пределами сердца.

Обоснование выбранной (выбранных) дозы (доз)

Результаты исследований с однократным введением в нарастающих и многократным введением в нарастающих дозах MEDI6012, как описано в примерах 1 и 2 выше, продемонстрировали, что скорость повышения HDL-C и apoA1 является дозозависимой. Доклинические исследования установили, что инфузии частиц ApoA1 или HDL обеспечивают защиту миокарда в ходе острого STEMI. Поскольку данное исследование включает лечение пациентов со STEMI в острой стадии, цель состоит в том, чтобы как можно быстрее повысить HDL и apoA1. Поэтому в день 1 вводят нагрузочную дозу 300 мг MEDI6012 или плацебо для достижения быстрого повышения уровня HDL-C.

На основании данных и моделирования из исследования с однократным введением в нарастающих дозах (SAD) MEDI6012 и когорт 1 и 2 из исследования с многократным введением в нарастающих дозах (MAD) ожидается, что доза 300 мг повысит HDL-C на ~50% за 90 минут и на ~100% за 6 часов (при условии, что средний уровень HDL-C составляет 35 мг/дл у пациентов со STEMI). Кроме того, ожидается, что эта доза улучшит функцию HDL, исходя из данных о способности к оттоку холестерина из исследования с однократным введением в нарастающих дозах, и приведет к минимальному повышению очень больших частиц HDL (VVL-HDL) (>17 нм). Вторую дозу MEDI6012 150 мг или плацебо вводят через 48 часов (примерно один период полужизни) после первой дозы для поддержания уровней/концентрации HDL-C и/или apoA1 во время острой и подострой фаз инфаркта миокарда.

В схеме с 2 дозами (таблица 7 ниже) введение доз прекращают после второй дозы, причем введение доз осуществляют только в условиях стационара. Данная схема обладает преимуществом, заключающимся в том, что она является краткосрочной терапией, которая не требует, чтобы субъект возвращался для дальнейших введений в амбулаторных условиях. В схеме с 6 дозами (таблица 8 ниже) субъекты получают дозу 300 мг исходного уровня и дозу 150 мг через 48 часов, а затем 4 еженедельные дозы по 100 мг в амбулаторных условиях. Поддерживающую дозу 100 мг выбрали для поддержания HDL-C на уровне, обеспечивающем пользу в эпидемиологических исследованиях, и на уровне, который не приводит к заметному накоплению CE в частицах LDL.

Таблица 7. Схема с 2 дозами

Доза	Введение
День 1 – доза №1 (нагрузочная доза)	300 мг MEDI6012, вводимая в/в струйно в течение 1–2 минут
День 3 (48 ± 8 часов) – доза №2 (поддерживающая доза в стационаре)	150 мг MEDI6012, вводимая в/в струйно в течение 1–2 минут

В/в = внутривенно.

Таблица 8. Схема с 6 дозами

Дозы	Введение
День 1 – доза №1 (нагрузочная доза)	300 мг MEDI6012, вводимая в/в струйно в течение 1–2 минут
День 3 (48 ± 8 часов) – доза №2 (поддерживающая доза в стационаре)	150 мг MEDI6012, вводимая в/в струйно в течение 1–2 минут
День 10, 17, 24, 31 – дозы 3–6 (амбулаторные поддерживающие дозы) ^a	100 мг MEDI6012, вводимая в/в струйно в течение 1–2 минут

STEMI = инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST.

Дозы 3–6 имеют интервал ± 1 день для учета STEMI, возникающих в субботу или воскресенье.

Статистические анализы

Анализ эффективности: основную конечную точку эффективности размера инфаркта анализируют с помощью критерия Стьюдента с логарифмическим преобразованием данных, основанных на популяции для анализа первичной эффективности. Основную конечную точку эффективности в виде размера инфаркта также анализируют на основе популяции для анализа эффективности – TIMI 2–3, популяции для анализа эффективности – TIMI 0–3 и популяции ИТТ. Фракцию выброса (EF), массу миокарда и объемы левых желудочков (LV) анализируют аналогично размеру инфаркта без логарифмического преобразования данных. Изменение по сравнению с индикаторной компьютерной томографической ангиографией (СТА) в объеме некальцинированных бляшек анализируют с использованием критерия Стьюдента, основанного на популяции анализа СТА. Площадь под кривыми креатинкиназы 0–48 часов с логарифмическим преобразованием анализируют с использованием критерия Стьюдента, основанного на популяции, фактически получающей лечение.

Промежуточный анализ:

запланированы два промежуточных анализа. Целью первого промежуточного анализа является оценка целесообразности лечения и потенциальное прекращение схемы введения доз. Его проводят после того, как 30% популяции первичного анализа завершили свой последний визит исследования. Второй промежуточный анализ планируют для ускорения принятия решения о будущей разработке MEDI6012 и проводят после того, как 60% участников завершили свой последний визит исследования. Подробности промежуточного анализа указывают в плане промежуточного анализа до расслепления.

Другие варианты осуществления

Из вышеприведенного описания будет очевидно, что в отношении изобретения, описанного в данном документе, может быть осуществлен ряд изменений и модификаций, чтобы адаптировать его к различным вариантам применения и условиям. Такие варианты осуществления также находятся в пределах объема следующей формулы изобретения.

Изложение списка элементов в любом определении переменной в данном документе включает определения данной переменной как любого отдельного элемента или комбинации (или подкомбинации) перечисленных элементов. Изложение варианта осуществления в данном документе включает данный вариант осуществления в качестве любого отдельного варианта осуществления или в сочетании с любыми другими вариантами осуществления или их частями.

Все патенты и публикации, упомянутые в данном описании, включены в данный документ посредством ссылки в той же степени, как если бы каждый независимый патент и публикация были специально и отдельно указаны для включения посредством ссылки.

Формула изобретения

1. Способ лечения заболевания сердца или сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов у субъекта, при этом способ предусматривает:

введение нуждающемуся в этом субъекту одной или нескольких доз выделенного и очищенного фермента лецитин-холестерин-ацилтрансферазы (LCAT) при величине дозы, составляющей 20–2000 мг, где каждую дозу вводят в течение периода времени, составляющего от приблизительно 1 минуты до приблизительно 3 часов, с целью лечения у субъекта заболевания сердца или сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов.

2. Способ по п. 1, где у субъекта имеется острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, нестабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS), инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, инфаркт миокарда с наследственной предрасположенностью или приобретенный, сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса (EF), сердечная недостаточность с сохраненной EF, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы.

3. Способ по п. 1 или п. 2, где у субъекта имеется стабильное заболевание коронарных артерий (CAD).

4. Способ по любому из пп. 1–3, где одна или несколько доз LCAT, вводимых субъекту, представлены в количестве, выбранном из 24 мг, 40 мг, 80 мг, 100 мг, 120 мг, 150 мг, 240 мг, 300 мг, 600 мг, 800 мг или 1600 мг.

5. Способ по любому из пп. 1–3, где одну или несколько доз LCAT вводят субъекту в количестве, выбранном из 300 мг, 150 мг и 100 мг.

6. Способ по п. 5, где одна или несколько доз LCAT предусматривают первую дозу в количестве 300 мг и вторую дозу в количестве 150 мг, вводимую через приблизительно 48 часов \pm 8 часов после первой дозы.

7. Способ по п. 5, где одна или несколько доз LCAT предусматривают первую дозу в количестве 300 мг; вторую дозу в количестве 150 мг, вводимую через приблизительно 48 часов \pm 8 часов после первой дозы; и третью дозу в количестве 100 мг, вводимую через приблизительно неделю после второй дозы.

8. Способ по п. 5, где одна или несколько доз LCAT предусматривают первую дозу в количестве 300 мг; вторую дозу в количестве 150 мг, вводимую через приблизительно 48 часов \pm 8 после первой дозы; и по меньшей мере четыре последующие дозы в количествах 100 мг на дозу, вводимые примерно раз в неделю после второй дозы.

9. Способ по любому из пп. 1–8, где одну или несколько доз LCAT вводят внутривенно субъекту.

10. Способ по любому из пп. 1–9, где одну или несколько доз LCAT вводят субъекту посредством в/в струйного введения.

11. Способ по п. 9, где LCAT вводят внутривенно субъекту в течение периода времени, составляющего от приблизительно 30 минут до 1 часа.

12. Способ по п. 10, где LCAT вводят субъекту путем в/в струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты.

13. Способ по п. 5, где LCAT вводят субъекту в одной дозе в количестве 300 мг.

14. Способ по п. 13, где одну дозу LCAT вводят субъекту путем в/в струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты.

15. Способ по п. 5, где LCAT вводят субъекту в двух дозах, из которых первая доза представлена в количестве 300 мг, и вторая доза представлена в количестве 150 мг.

16. Способ по п. 5, где LCAT вводят субъекту в трех дозах, из которых первая доза представлена в количестве 300 мг; вторая доза представлена в количестве 150 мг; и третья доза представлена в количестве 100 мг.

17. Способ по п. 5, где LCAT вводят субъекту в шести дозах, из которых первая доза представлена в количестве 300 мг; вторая доза представлена в количестве 150 мг; и дозы от третьей до шестой представлены в количестве 100 мг.

18. Способ по любому из пп. 15–17, где вторую дозу LCAT вводят субъекту в течение приблизительно 48 часов \pm 8 часов после первой дозы.

19. Способ по любому из пп. 16–18, где третью дозу LCAT вводят субъекту в течение приблизительно недели после второй дозы.

20. Способ по п. 17, где вторую дозу LCAT вводят субъекту в течение приблизительно 48 часов \pm 8 часов после первой дозы; где третью дозу LCAT вводят субъекту в течение приблизительно недели после второй дозы; и где дозы LCAT от четвертой до шестой затем вводят примерно раз в неделю.

21. Способ по любому из пп. 15–20, где по меньшей мере первую дозу LCAT вводят субъекту посредством в/в струйного введения.

22. Способ по любому из пп. 1–4, где LCAT вводят субъекту посредством подкожной (п/к) инъекции.

23. Способ по п. 22, где LCAT вводят субъекту путем п/к инъекции в дозе 80 мг или 600 мг.

24. Способ по любому из пп. 1–21, где введение LCAT повышает у субъекта эндогенные уровни холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-C) и/или аполипопротеина A1 (apoA1).

25. Способ по п. 23, где введение LCAT путем п/к инъекции в дозе 600 мг повышает у субъекта эндогенные уровни аполипопротеина A1 (apoA1).

26. Способ по любому из пп. 1–25, где введение LCAT не повышает у субъекта эндогенные уровни аполипопротеина B (apoB).

27. Способ по любому из пп. 1–26, где выделенный и очищенный LCAT представляет собой рекомбинантный LCAT человека (rhLCAT).

28. Способ по п. 27, где rhLCAT представляет собой MEDI6012 (SEQ ID NO: 2).

29. Способ лечения заболевания сердца или сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов у субъекта, при этом способ предусматривает:

введение нуждающемуся в этом субъекту нагрузочной дозы выделенного и очищенного фермента лецитин-холестерин-ацилтрансферазы (LCAT) в количестве 250–500 мг, доставляемом субъекту путем внутривенного (в/в) струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–5 минут, при поступлении субъекта для лечения.

30. Способ по п. 29, где нагрузочную дозу LCAT вводят субъекту в количестве 300 мг.

31. Способ по п. 30, где нагрузочную дозу LCAT вводят субъекту в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты.

32. Способ по п. 31, где нагрузочную дозу LCAT вводят субъекту в течение периода времени, составляющего приблизительно 1 минуту.

33. Способ по любому из пп. 29–32, где одну или несколько доз LCAT вводят субъекту после нагрузочной дозы.

34. Способ по п. 33, где дозу LCAT в количестве 100–200 мг вводят субъекту после нагрузочной дозы.

35. Способ по п. 34, где дозу LCAT в количестве 150 мг вводят субъекту после нагрузочной дозы.

36. Способ по любому из пп. 33–35, где дозу LCAT в количестве 100–150 мг вводят субъекту после дозы, составляющей 100–200 мг или 150 мг.

37. Способ по п. 36, где дозу LCAT в количестве 100 мг вводят субъекту после дозы, составляющей 100–200 мг или 150 мг.

38. Способ по п. 34 или п. 35, где субъекту вводят по меньшей мере 4 еженедельные дозы LCAT в количестве 80–150 мг на дозу через приблизительно неделю после дозы, составляющей 100–200 мг, или дозы, составляющей 150 мг.

39. Способ по п. 34 или п. 35, где субъекту вводят по меньшей мере 4 еженедельные дозы LCAT в количестве 100 мг на дозу через приблизительно неделю после дозы, составляющей 100–200 мг, или дозы, составляющей 150 мг.

40. Способ по любому из пп. 33–39, где одну или несколько доз LCAT после нагрузочной дозы внутривенно вводят субъекту посредством в/в струйного и/или в/в инфузионного введения.

41. Способ по любому из пп. 29–40, где выделенный и очищенный LCAT представляет собой рекомбинантный LCAT человека (rhLCAT).

42. Способ по п. 41, где rhLCAT представляет собой MEDI6012 (SEQ ID NO: 2).

43. Способ лечения заболевания сердца или сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов у субъекта, при этом способ предусматривает:

парентеральное введение нуждающемуся в этом субъекту двух или более доз выделенного и очищенного фермента лецитин-холестерин-ацилтрансферазы (LCAT), где каждая доза содержит LCAT в количестве 20–500 мг, с целью лечения у субъекта заболевания сердца или сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов.

44. Способ по п. 43, где две или более дозы LCAT, вводимые субъекту, представлены в количестве, выбранном из 300 мг, 150 мг или 100 мг.

45. Способ по п. 43 или п. 44, где три дозы LCAT вводят субъекту и они предусматривают дозу, составляющую 300 мг, вводимую в день 1; дозу, составляющую 150 мг, вводимую в день 3; дозу, составляющую 100 мг, вводимую в день 10; и где необязательно последующие дозы LCAT вводят субъекту с предварительно заданными временными интервалами до приблизительно 30 дней или дольше после дозы, введенной в день 10.

46. Способ по любому из пп. 43–45, где LCAT внутривенно вводят субъекту посредством внутривенного струйного введения и/или внутривенной инфузии.

47. Способ по любому из пп. 29–46, где у субъекта имеется острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание

коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, нестабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS), инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, инфаркт миокарда с наследственной предрасположенностью или приобретенный, сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса (EF), сердечная недостаточность с сохраненной EF, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы.

48. Способ по любому из пп. 43–47, где выделенный и очищенный LCAT представляет собой рекомбинантный LCAT человека (rhLCAT).

49. Способ по п. 48, где rhLCAT представляет собой MEDI6012 (SEQ ID NO: 2).

50. Способ по п. 49, где у субъекта, подвергаемого лечению, имеется стабильное CVD.

51. Способ лечения заболевания сердца или сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов у субъекта, при этом способ предусматривает:

введение внутривенно нуждающемуся в этом субъекту первой дозы выделенного и очищенного фермента лецитин-холестерин-ацилтрансферазы (LCAT) в количестве 200–500 мг и

введение внутривенно субъекту второй дозы фермента LCAT в количестве 100–200 в момент времени примерно 48 часов \pm 8 часов после первой дозы с целью лечения у субъекта заболевания сердца или сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов.

52. Способ по п. 51, где первая доза LCAT составляет 300 мг, и вторая доза LCAT составляет 100 мг или 150 мг.

53. Способ по п. 52, где первая доза LCAT составляет 300 мг, и вторая доза LCAT составляет 150 мг.

54. Способ по любому из пп. 51–53, где по меньшей мере первую дозу LCAT вводят субъекту посредством в/в струйного введения.

55. Способ по п. 54, где введение путем в/в струйного введения осуществляют в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты.

56. Способ по любому из пп. 51–55, дополнительно предусматривающий введение внутривенно субъекту дозы LCAT в количестве 100–150 мг через неделю после второй дозы.

57. Способ по п. 56, где доза LCAT, вводимая субъекту через приблизительно неделю после второй дозы, представлена в количестве 100 мг.

58. Способ по любому из пп. 51–55, дополнительно предусматривающий введение внутривенно субъекту по меньшей мере четырех еженедельных доз LCAT в количестве 100–200 мг после второй дозы.

59. Способ по п. 58, где по меньшей мере четыре еженедельные дозы LCAT, вводимые после второй дозы, представлены в количестве 100 мг.

60. Способ по любому из пп. 51–59, где выделенный и очищенный LCAT представляет собой рекомбинантный LCAT человека (rhLCAT).

61. Способ по п. 60, где rhLCAT представляет собой MEDI6012 (SEQ ID NO: 2).

62. Способ по любому из пп. 51–61, где у субъекта имеется острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, нестабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS), инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, инфаркт миокарда с наследственной предрасположенностью или приобретенный, сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса (EF), сердечная недостаточность с сохраненной EF, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы.

63. Способ лечения субъекта, у которого имеется заболевание сердца или сердечно-сосудистое заболевание и/или их симптомы, при этом способ предусматривает:

введение внутривенно субъекту первой дозы выделенного и очищенного фермента лецитин-холестерин-ацилтрансферазы (LCAT) MEDI6012 в количестве 200–500 мг;

введение внутривенно субъекту второй дозы фермента LCAT MEDI6012 в количестве 100–200 мг в момент времени приблизительно 48 часов \pm 8 часов после первой дозы; и

введение внутривенно субъекту третьей дозы фермента LCAT MEDI6012 в количестве 100–150 в момент времени от приблизительно 7 до 10 дней после второй дозы с целью лечения у субъекта заболевания сердца или сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов.

64. Способ по п. 63, где первая доза фермента LCAT MEDI6012 составляет 300 мг; вторая доза MEDI6012 составляет 150 мг; и третья доза MEDI6012 составляет 100 мг.

65. Способ по п. 63 или п. 64, где по меньшей мере первую дозу фермента LCAT MEDI6012 вводят субъекту путем в/в струйного введения.

66. Способ по любому из пп. 63–65, где у субъекта имеется острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, нестабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS), инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, инфаркт миокарда с наследственной предрасположенностью или приобретенный, сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса (EF), сердечная недостаточность с сохраненной EF, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы.

67. Способ повышения эндогенных уровней холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-C) и/или аполипопротеина A1 (apoA1) у субъекта, у которого имеется заболевание сердца или сердечно-сосудистое заболевание и/или их симптомы, при этом способ предусматривает:

введение субъекту первой нагрузочной дозы рекомбинантного фермента LCAT человека (rhLCAT) MEDI6012 в количестве 300 мг путем в/в струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–5 минут;

введение внутривенно субъекту второй дозы фермента LCAT MEDI6012 в количестве 150 мг в момент времени приблизительно 48 часов \pm 8 часов после первой дозы; и

введение внутривенно субъекту третьей дозы фермента LCAT MEDI6012 в количестве 100 мг в момент времени приблизительно 7 дней после второй дозы для повышения эндогенных уровней холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-C) и/или аполипопротеина A1 (apoA1), за счет чего осуществляется лечение у субъекта заболевания сердца или сердечно-сосудистого заболевания и/или их симптомов.

68. Способ по п. 67, где первую и последующие дозы MEDI6012 вводят субъекту путем в/в струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты.

69. Способ по п. 67 или п. 68, где у субъекта имеется острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, нестабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS), инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, инфаркт миокарда с наследственной предрасположенностью или приобретенный, сердечная недостаточность

со сниженной фракцией выброса (EF), сердечная недостаточность с сохраненной EF, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы.

70. Способ по любому из пп. 1–69, где дозу или первую дозу выделенного и очищенного фермента LCAT или MEDI6012 вводят субъекту в течение приблизительно 1–3 минут при поступлении субъекта в больницу или медицинское учреждение.

71. Способ по любому из пп. 1–70, где введение выделенного и очищенного фермента LCAT или MEDI6012 повышает эндогенные уровни холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-C) и/или аполипопротеина A1 (apoA1) у субъекта и снижает или не изменяет эндогенные уровни аполипопротеина B (apoB) у субъекта.

72. Способ по любому из пп. 1–71, где введение выделенного и очищенного фермента LCAT или MEDI6012 не повышает эндогенный холестерин липопротеинов низкой плотности (LDL-C) и незначительно повышает или вообще не повышает VL-HDL и VVL-HDL.

73. Способ по любому из пп. 1–72, где введение выделенного и очищенного LCAT или MEDI6012 обеспечивает миокардиопротективный эффект за счет предотвращения гибели клеток миокарда и уменьшения размера атеросклеротической бляшки у субъекта.

74. Способ по любому из пп. 1–73, где субъект принимает лекарственное средство из группы статинов.

75. Способ по любому из пп. 1–74, где LCAT или MEDI6012 вводят субъекту в комбинации с одним или несколькими терапевтическими лекарственными средствами, лекарственными препаратами или соединениями.

76. Способ по п. 75, где одно или несколько терапевтических лекарственных средств, лекарственных препаратов или соединений представляют собой лекарственное средство из группы статинов, ингибитор PCSK9 или другое гипохолестеринемическое средство.

77. Способ по п. 76, где лекарственное средство из группы статинов, ингибитор PCSK9 или другое гипохолестеринемическое средство выбрано из аторвастатина (LIPITOR), флувастатина (LESCOL), ловастатина (MEVACOR, ALTOPREV), питевастатина (LIVALO), правастатина (PRAVACHOL), розувастатина (CRESTOR) и симвастатина (ZOCOR), эволокумаба (REPATHA[®]) или алирокумаба (PRALUENT[®]).

78. Способ по любому из пп. 75–77, где LCAT или MEDI6012 вводят субъекту до, одновременно, после или в другое время относительно введения одного или нескольких терапевтических лекарственных средств, лекарственных препаратов или соединений.

79. Способ обеспечения кардиотерапевтического, миокардиопротективного и антиатерогенного эффектов у субъекта, при этом способ предусматривает:

введение субъекту, у которого имеется заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание и/или их симптомы, парентеральной дозы выделенного и очищенного фермента лецитин-холестерин-ацилтрансферазы (LCAT) в дозе 80–500 мг, где эндогенные уровни HDL-C повышаются у субъекта в течение от приблизительно 1 минуты до по меньшей мере 6 часов и/или эндогенные уровни apoA1 повышаются в течение приблизительно 12–24 часов после введения LCAT субъекту, за счет чего обеспечиваются кардиотерапевтический, миокардиопротективный и антиатерогенный эффекты у субъекта.

80. Способ по п. 79, где введение LCAT обеспечивает кардиотерапевтический, миокардиопротективный и антиатерогенный эффекты за счет предотвращения фиброза и гипертрофии миокарда у субъекта.

81. Способ по п. 79 или п. 80, где LCAT вводят в дозе 300 мг.

82. Способ по любому из пп. 79–81, дополнительно предусматривающий введение субъекту второй дозы LCAT в количестве 125–250 мг в момент времени приблизительно 48 часов \pm 8 часов после парентеральной дозы.

83. Способ по п. 82, где вторую дозу LCAT вводят субъекту в количестве 150 мг.

84. Способ по любому из пп. 79–83, где эндогенные уровни HDL-C и/или apoA1 остаются повышенными в течение по меньшей мере 14 дней после введения LCAT.

85. Способ по любому из пп. 79–84, где LCAT вводят субъекту внутривенно.

86. Способ по любому из пп. 79–85, где парентеральную дозу LCAT вводят субъекту путем в/в струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты.

87. Способ по любому из пп. 79–86, где у субъекта имеется острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, нестабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS), инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, инфаркт миокарда с наследственной предрасположенностью или приобретенный,

сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса (EF), сердечная недостаточность с сохраненной EF, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы.

88. Способ по любому из пп. 79–87, где выделенный и очищенный LCAT представляет собой рекомбинантный LCAT человека (rhLCAT).

89. Способ по п. 88, где rhLCAT представляет собой MEDI6012 (SEQ ID NO: 2).

90. Способ по любому из пп. 1–88, где эндогенные уровни HDL-C и/или apoA1 повышаются в сыворотке крови или плазме крови у субъекта в течение от приблизительно 90 минут до 6 часов после введения LCAT или MEDI6012.

91. Способ по п. 90, где эндогенные уровни HDL-C и/или apoA1 повышаются на примерно 50% в сыворотке крови или плазме крови у субъекта в течение приблизительно 90 минут и/или эндогенные уровни HDL-C повышаются на по меньшей мере 90% в сыворотке крови или плазме крови у субъекта к моменту времени приблизительно 6 часов после введения LCAT или MEDI6012 по сравнению с контрольными уровнями.

92. Способ по п. 90 или п. 91, где уровни apoA1 остаются повышенными в течение по меньшей мере 7 дней у субъекта после введения LCAT или MEDI6012.

93. Способ по любому из пп. 1–92, где введение LCAT или MEDI6012 защищает субъекта от развития или прогрессирования одного или нескольких из инсульта, ишемического инсульта, повреждения миокарда, повреждения почек, повреждения печени или увеличения размера инфаркта.

94. Способ повышения эндогенных концентраций холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-C) и/или аполипопротеина A1 (apoA1) без повышения эндогенных концентраций аполипопротеина B (apoB) у субъекта, у которого имеется заболевание сердца, заболевание, связанное с сердцем, заболевание коронарных артерий и/или их симптомы или имеется риск их возникновения, при этом способ предусматривает:

введение внутривенно субъекту первой дозы выделенной и очищенной лецитин-холестерин-ацилтрансферазы (LCAT), рекомбинантной лецитин-холестерин-ацилтрансферазы человека (rhLCAT) или MEDI6012 в количестве от 40 до 500 мг при поступлении субъекта к медицинскому специалисту или в медицинское учреждение и

введение внутривенно субъекту второй дозы и по меньшей мере одной последующей поддерживающей дозы LCAT, rhLCAT или MEDI6012 в количестве 40–300 мг с предварительно заданными интервалами после первой дозы.

95. Способ по п. 94, где первую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту в количестве, выбранном из 40 мг, 120 мг, 150 мг или 300 мг.

96. Способ по п. 94 или п. 95, где первую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту в количестве 300 мг.

97. Способ по любому из пп. 94–96, где первую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту путем в/в струйного введения в течение периода времени, составляющего приблизительно 1–3 минуты.

98. Способ по любому из пп. 94–97, где вторую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту в количестве, выбранном из 40 мг, 80 мг, 100 мг, 120 мг или 150 мг.

99. Способ по п. 98, где вторую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту в количестве 150 мг.

100. Способ по п. 98 или п. 99, где вторую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту через приблизительно 48 часов \pm 8 часов после первой дозы.

101. Способ по любому из пп. 94–100, где по меньшей мере одну последующую поддерживающую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту в количестве, выбранном из 40 мг, 80 мг, 100 мг, 120 мг или 150 мг, после второй дозы.

102. Способ по п. 101, где по меньшей мере одну последующую поддерживающую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту в количестве 100 мг.

103. Способ по п. 101 или п. 102, где по меньшей мере одну последующую поддерживающую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту через приблизительно неделю после второй дозы.

104. Способ по п. 101 или п. 102, где по меньшей мере одну последующую поддерживающую дозу LCAT, rhLCAT или MEDI6012 вводят субъекту путем в/в струйного введения.

105. Способ по любому из пп. 94–104, где MEDI6012 (SEQ ID NO: 2) вводят субъекту.

106. Способ по любому из пп. 94–105, где у субъекта имеется острое или хроническое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание, заболевание коронарных артерий (CAD), стабильное CAD, атеросклероз, атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (CVD), стабильное CVD, нестабильное CVD, острый коронарный синдром (ACS), инсульт, ишемический инсульт, заболевание миокарда, инфаркт миокарда с наследственной предрасположенностью или приобретенный,

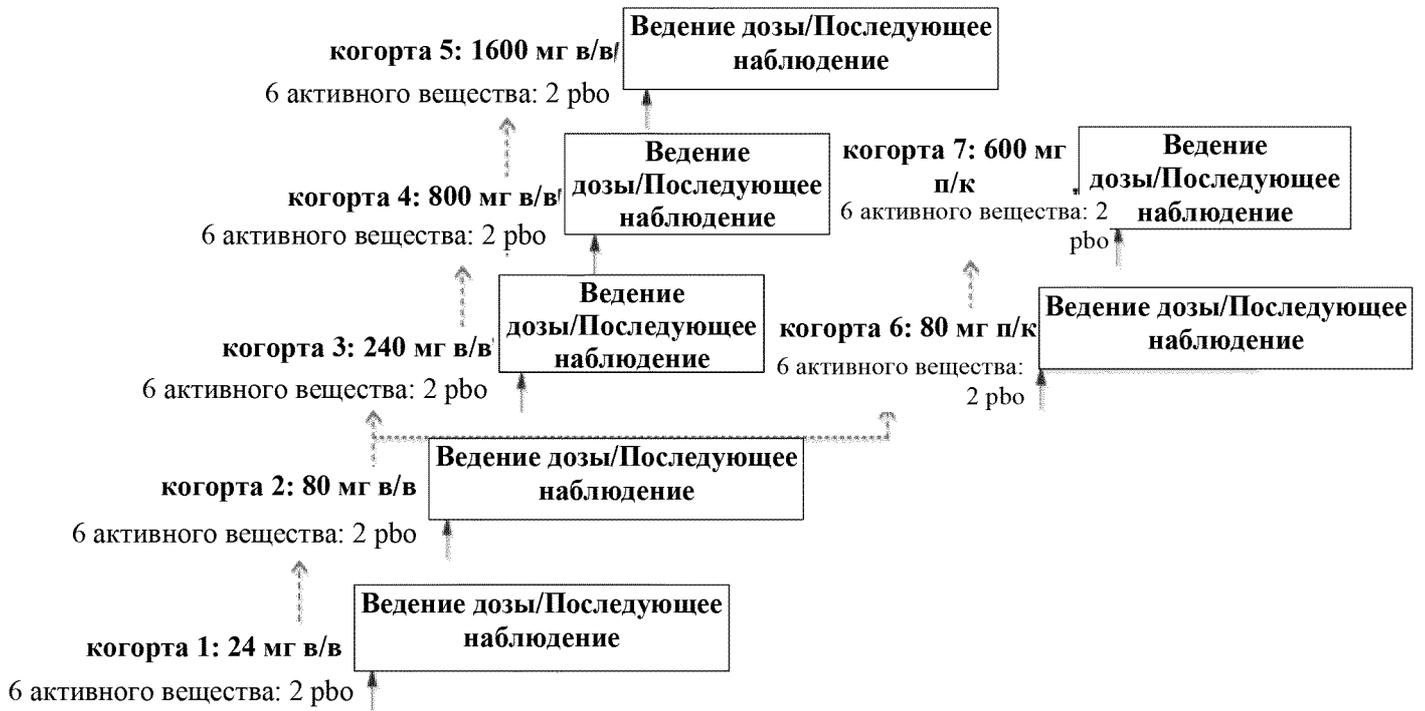
сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса (EF), сердечная недостаточность с сохраненной EF, неишемическая кардиомиопатия, кардиомиопатия, вызванная химиотерапией, цереброваскулярное заболевание, острая или хроническая почечная недостаточность и/или их симптомы или имеется риск их возникновения.

107. Способ по любому из пп. 94–106, где субъект одновременно получает лекарственное средство из группы статинов, ингибитор PCSK9 или гиполипидемическую лекарственную терапию.

108. Способ по любому из пп. 1–107, где способ обеспечивает уменьшение апоптоза кардиомиоцитов.

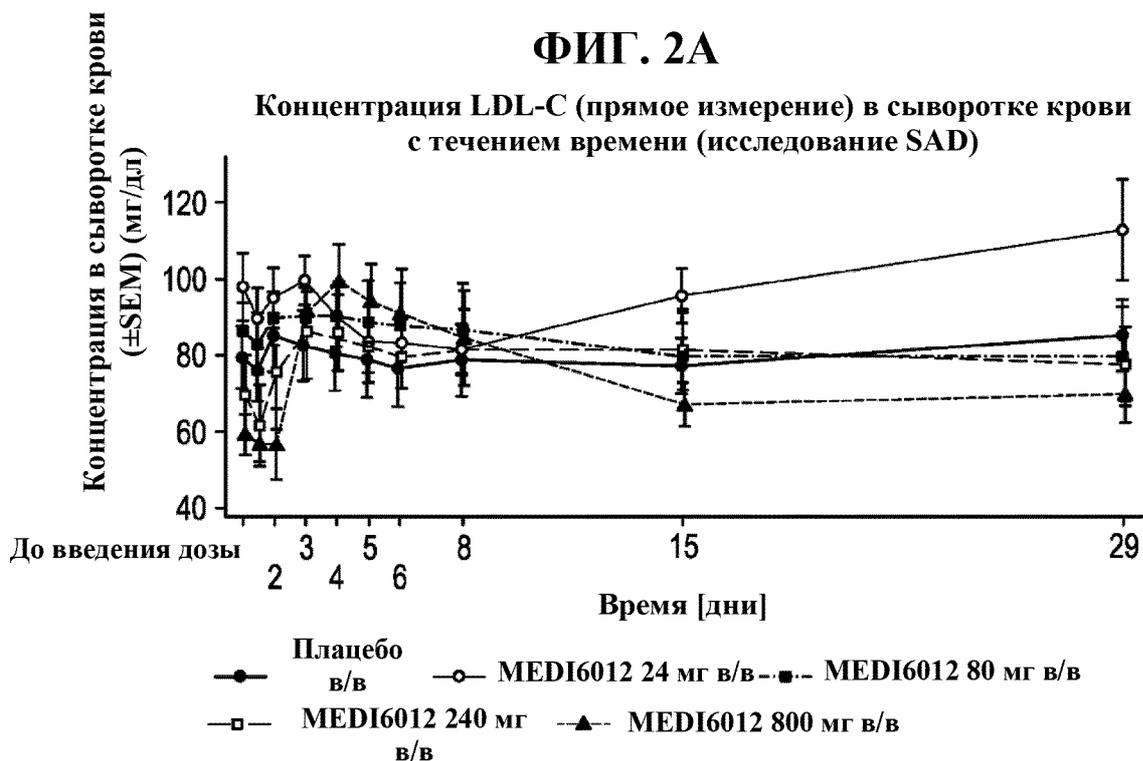
109. Способ по любому из пп. 1–108, где способ в результате приводит к пролиферации кардиомиоцитов.

ФИГ. 1

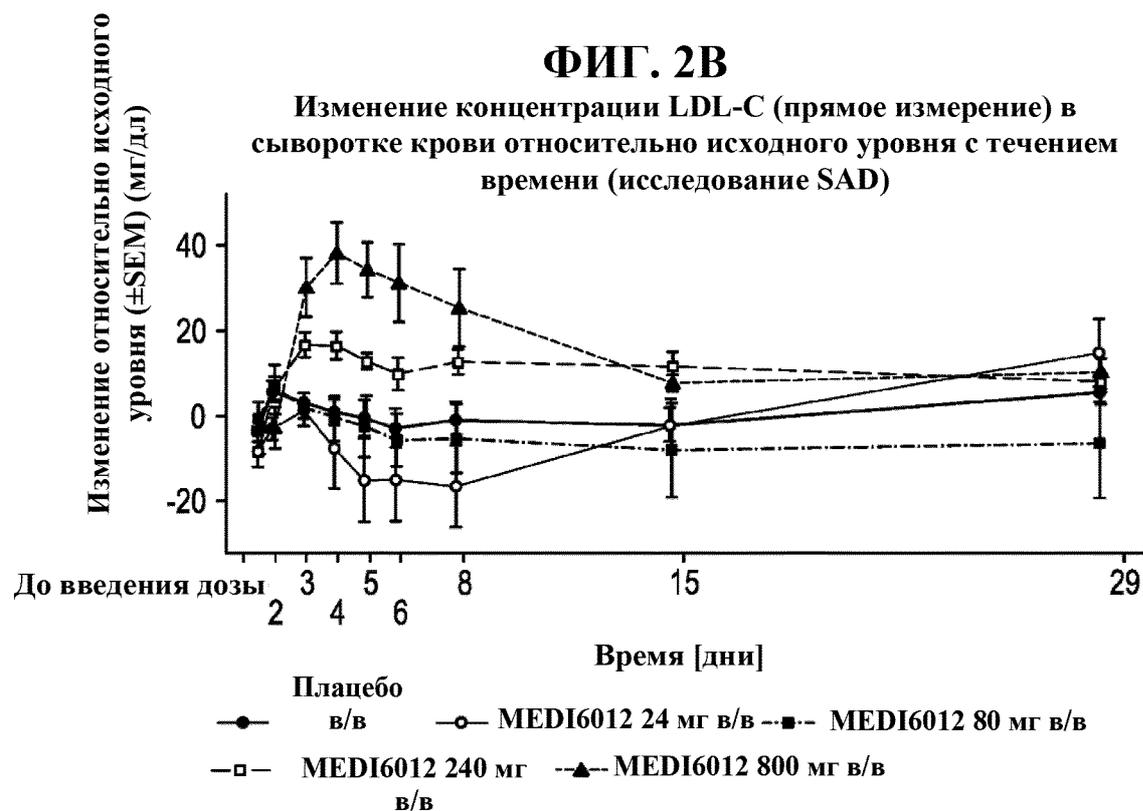


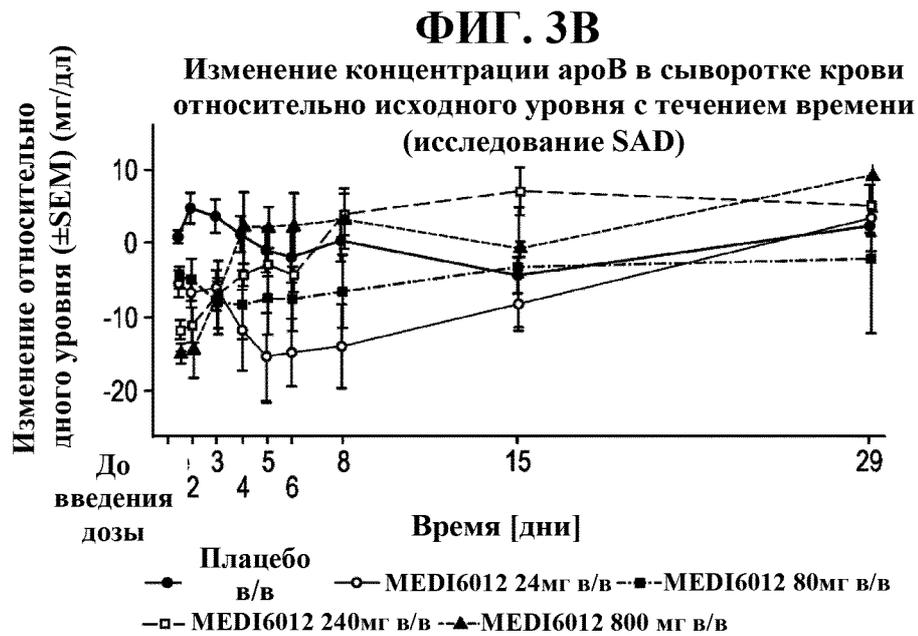
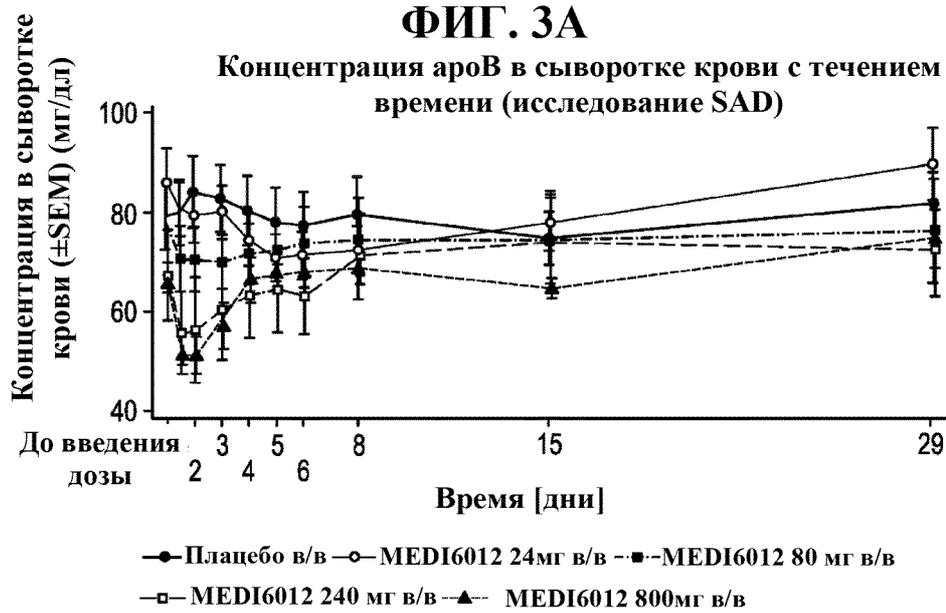
2/39

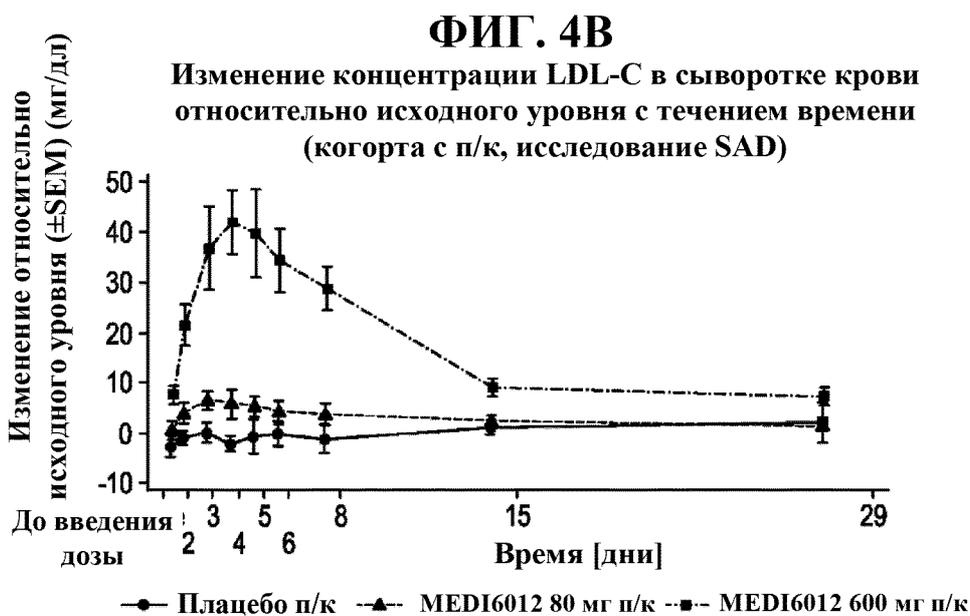
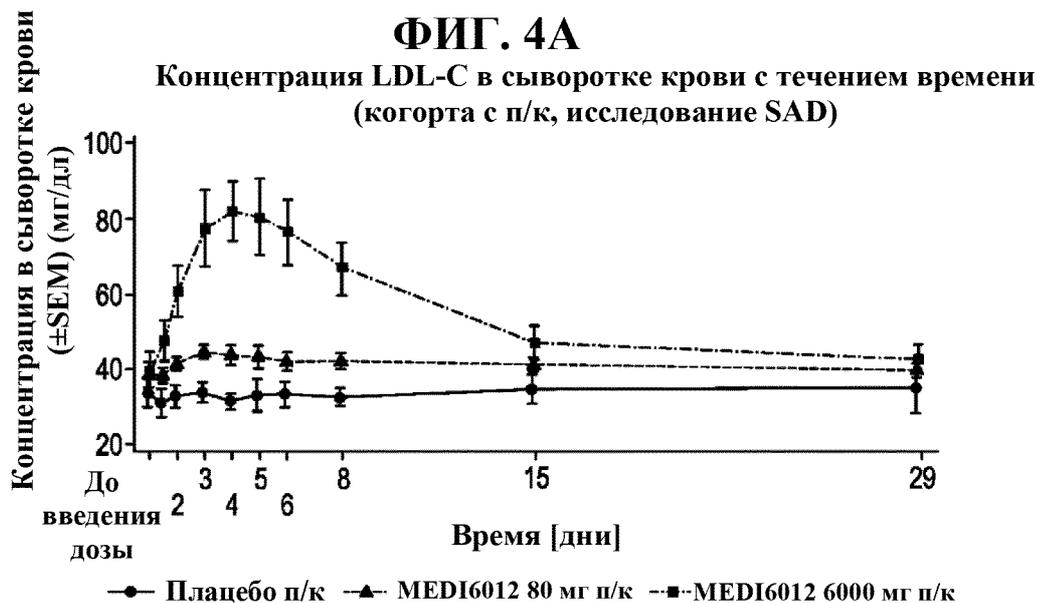
ФИГ. 2А



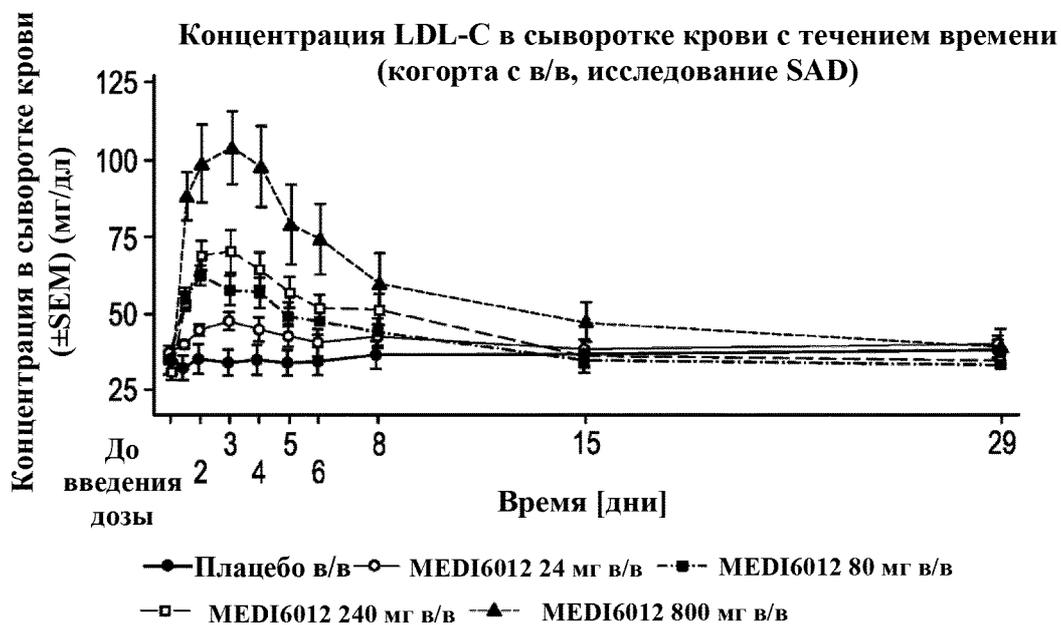
ФИГ. 2В



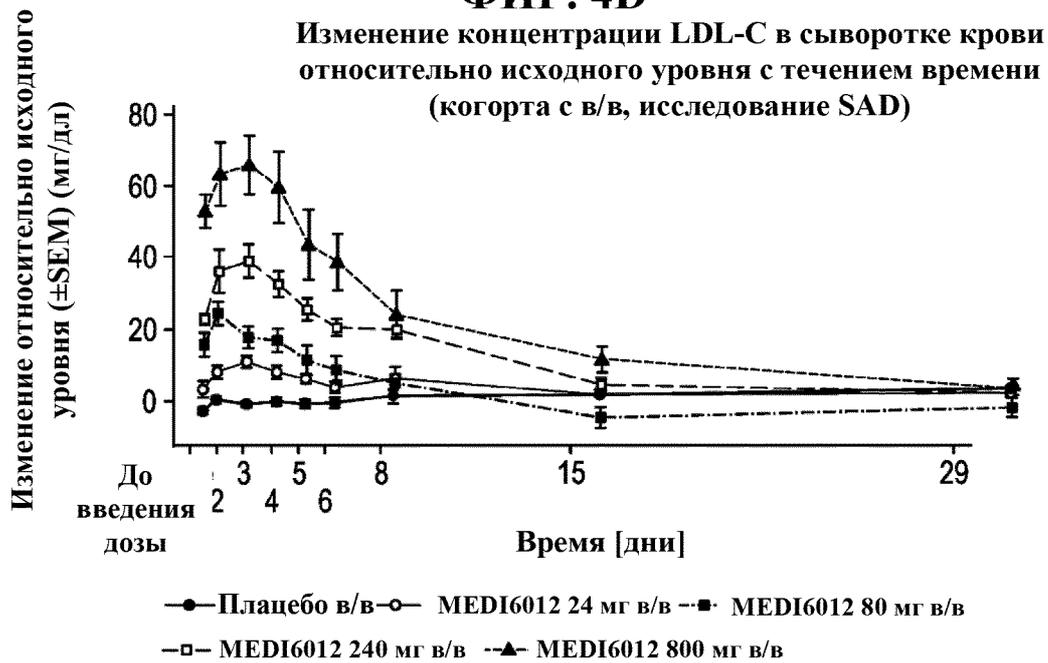




ФИГ. 4С

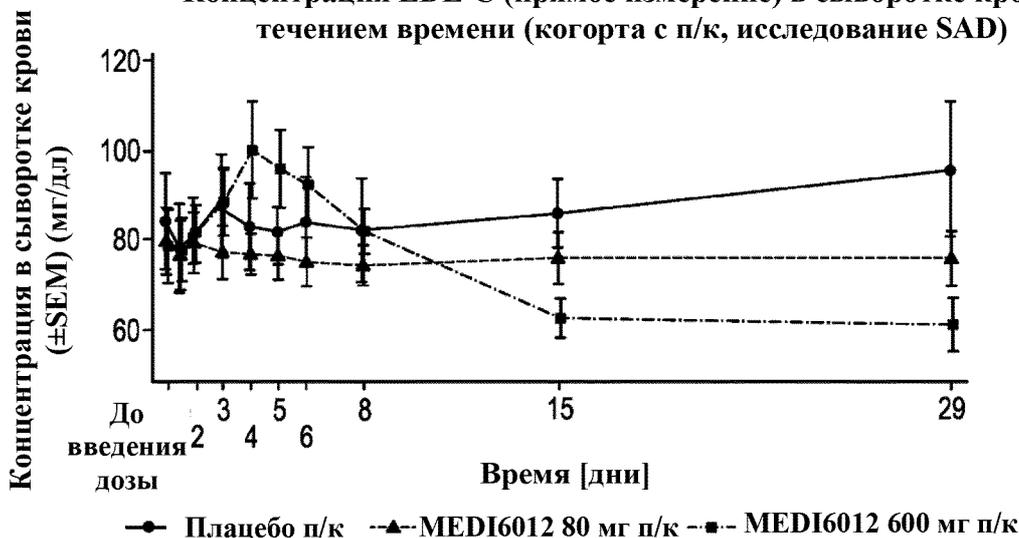


ФИГ. 4D



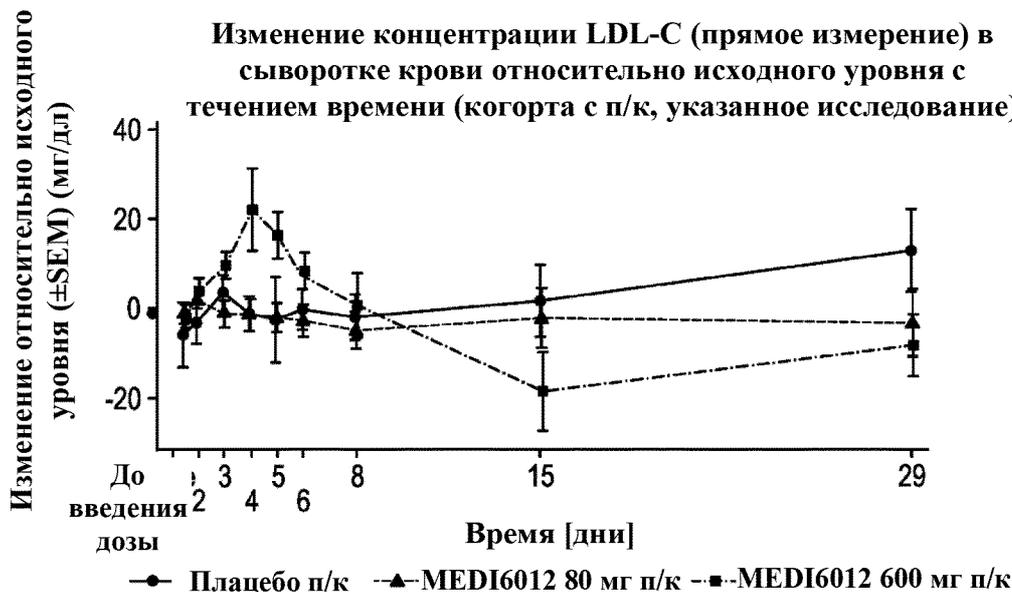
ФИГ. 5А

Концентрация LDL-C (прямое измерение) в сыворотке крови с течением времени (когорта с п/к, исследование SAD)



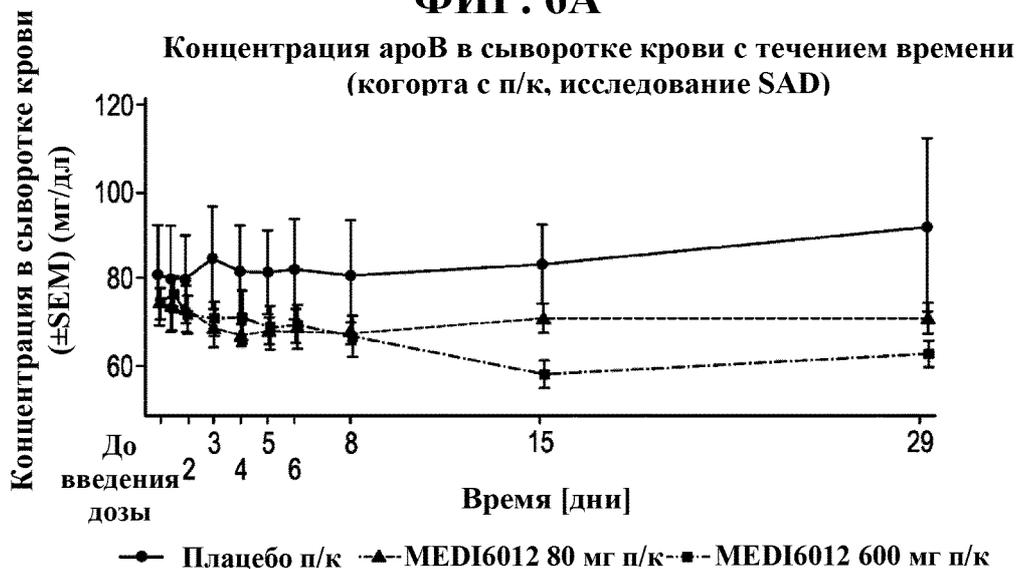
ФИГ. 5В

Изменение концентрации LDL-C (прямое измерение) в сыворотке крови относительно исходного уровня с течением времени (когорта с п/к, указанное исследование)

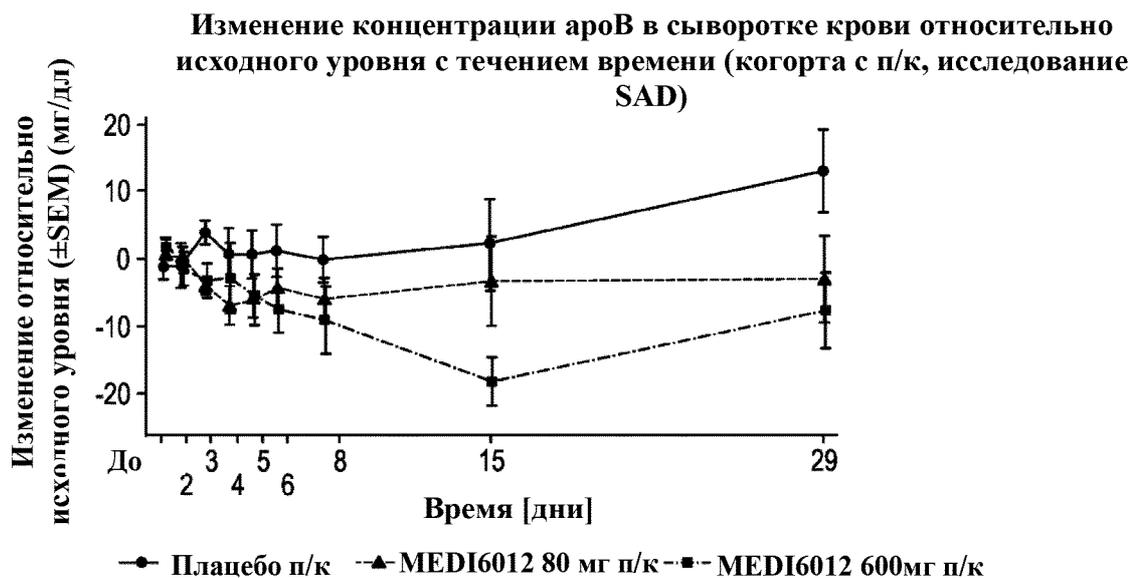


7/39

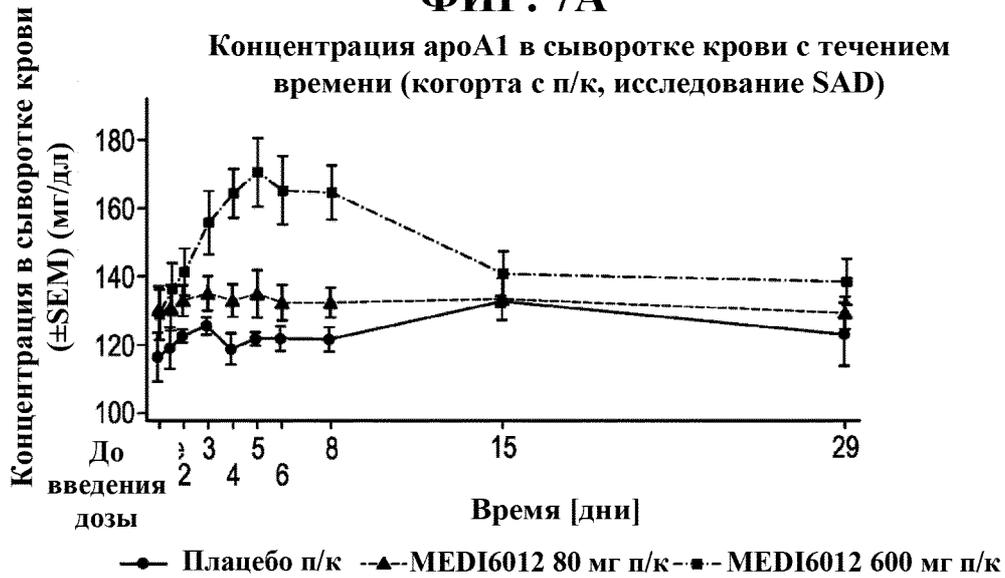
ФИГ. 6А



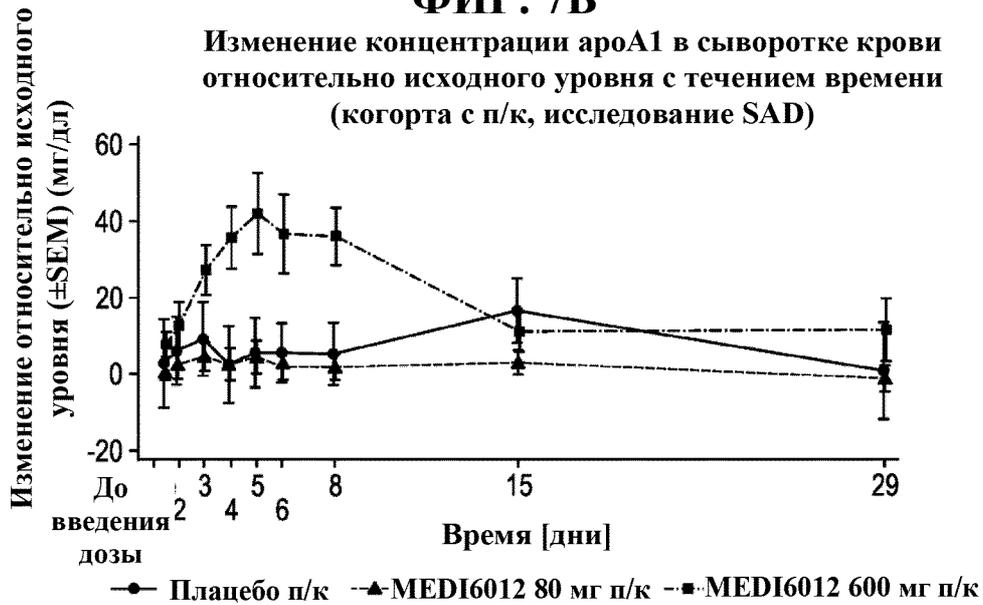
ФИГ. 6В



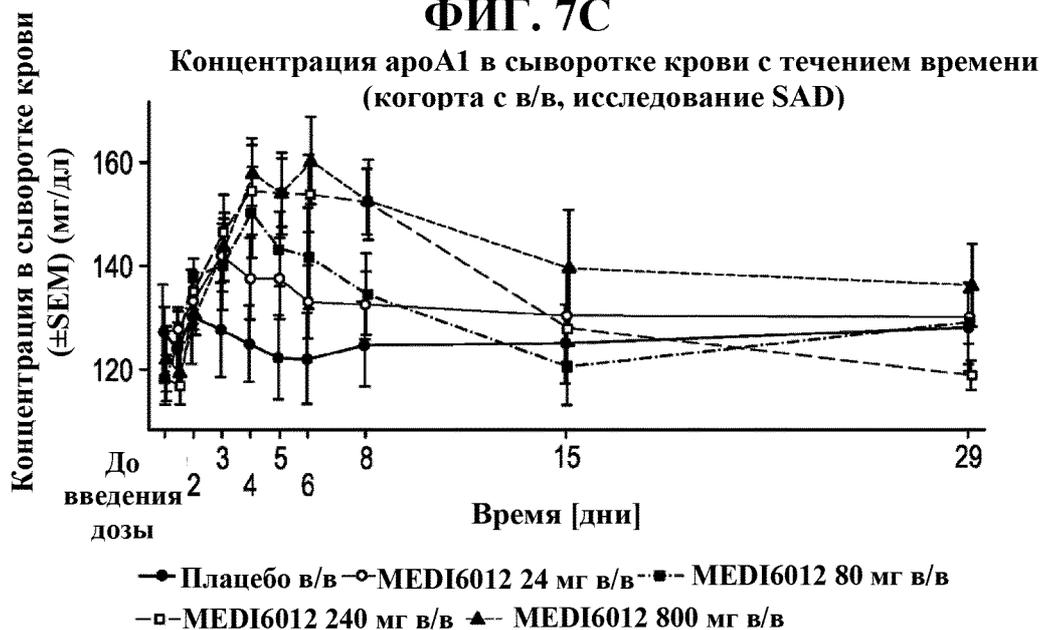
ФИГ. 7А



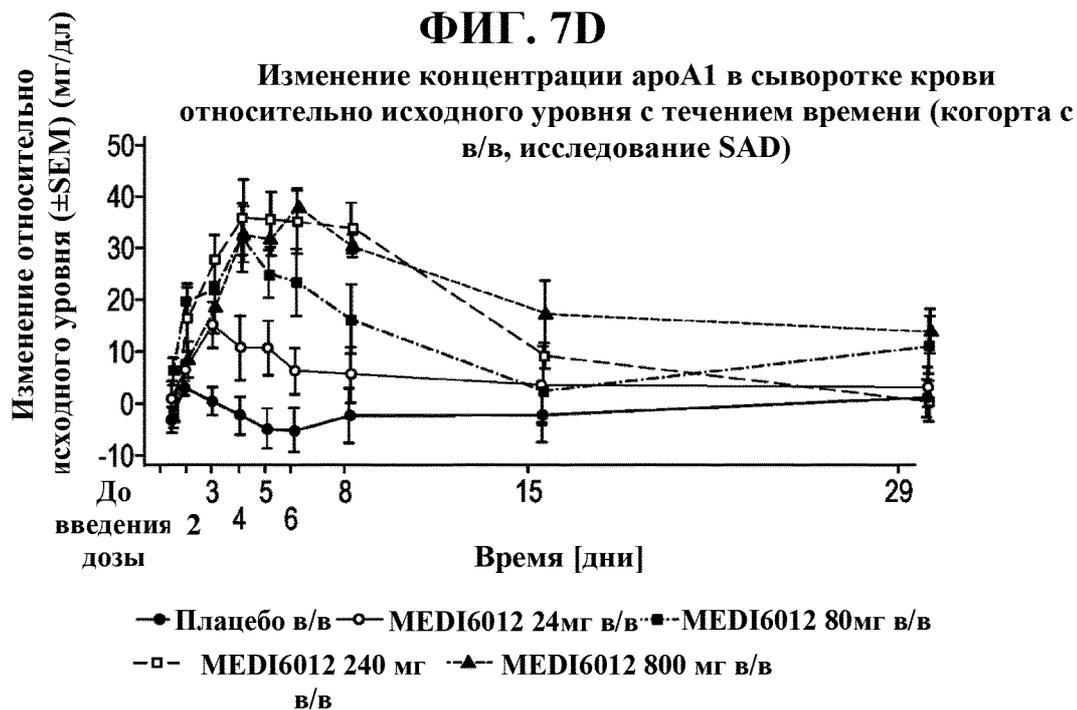
ФИГ. 7В



ФИГ. 7С



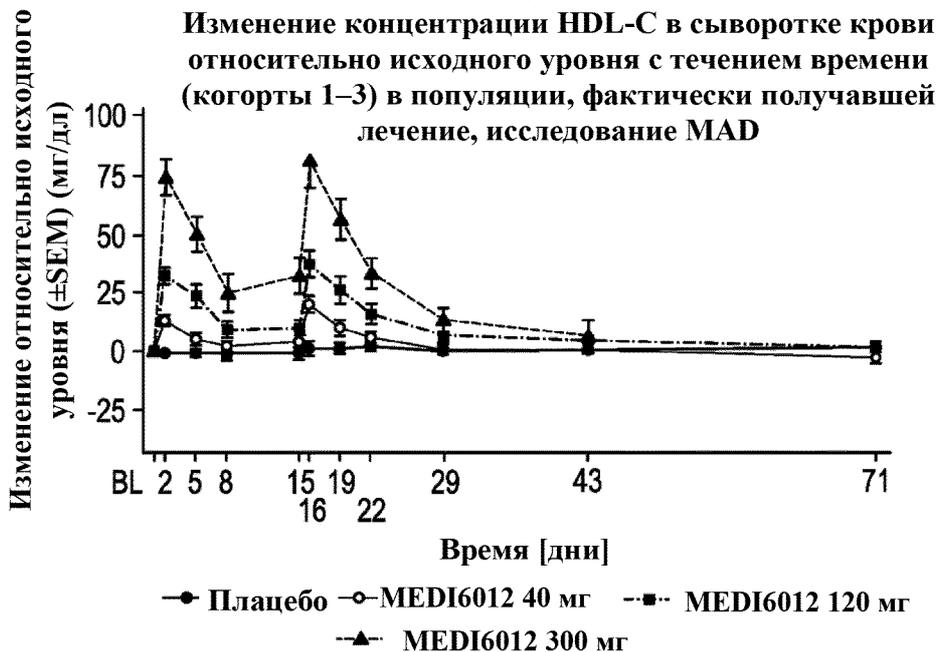
ФИГ. 7D



10/39

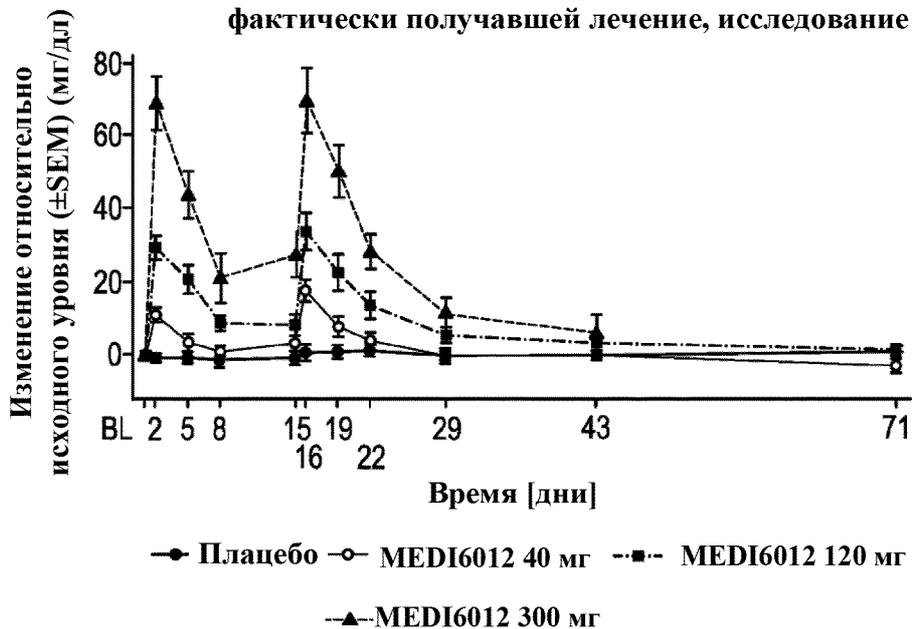
ФИГ. 8А

Изменение концентрации HDL-C в сыворотке крови относительно исходного уровня с течением времени (когорты 1–3) в популяции, фактически получавшей лечение, исследование MAD



ФИГ. 8В

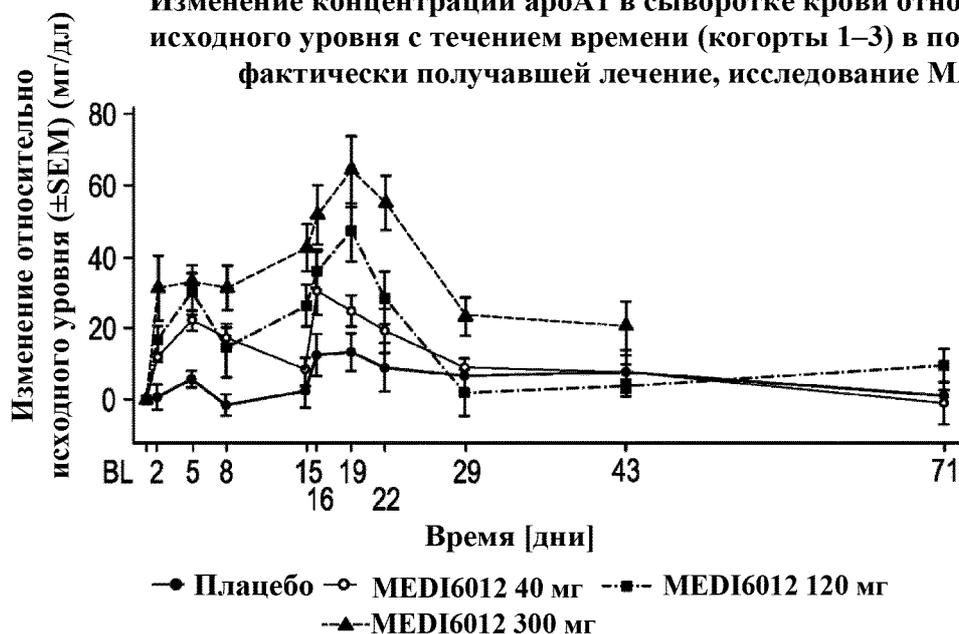
Изменение концентрации HDL-CE в сыворотке крови относительно исходного уровня с течением времени (когорты 1–3) в популяции, фактически получавшей лечение, исследование MAD



11/39

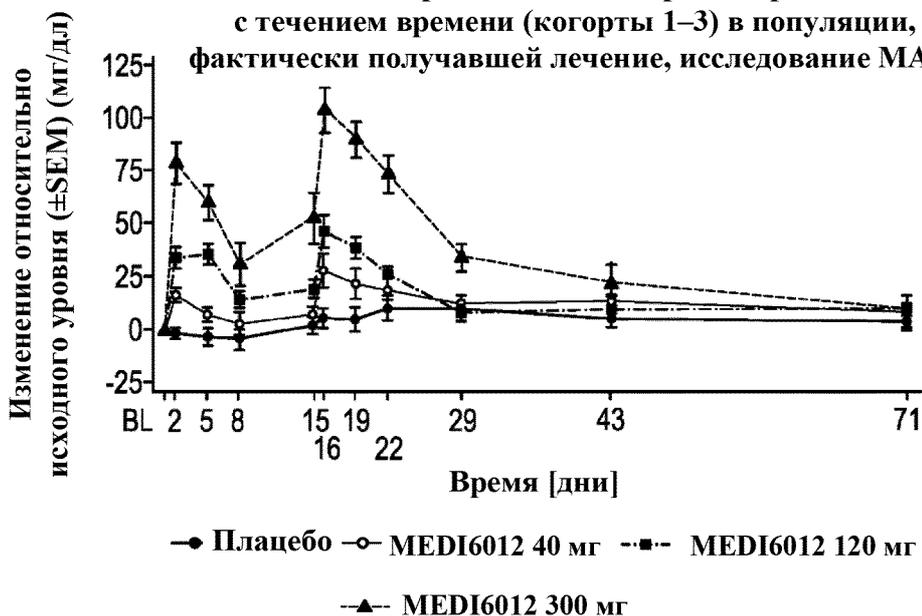
ФИГ. 8С

Изменение концентрации ароА1 в сыворотке крови относительно исходного уровня с течением времени (когорты 1–3) в популяции, фактически получавшей лечение, исследование MAD



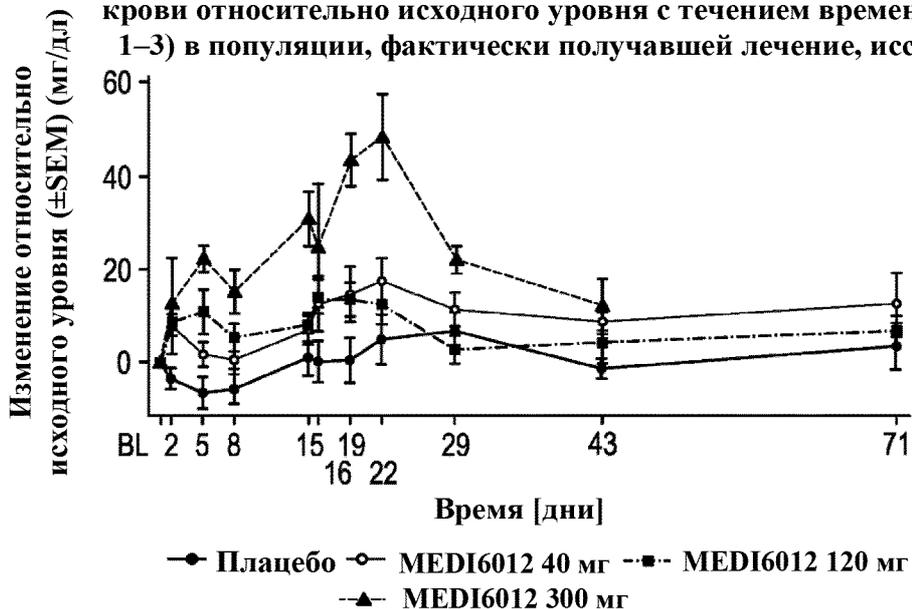
ФИГ. 8D

Изменение относительно исходного уровня в концентрации СЕ в сыворотке крови с течением времени (когорты 1–3) в популяции, фактически получавшей лечение, исследование MAD



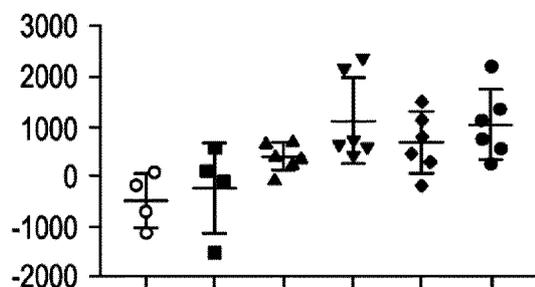
ФИГ. 9А

Изменение концентрации LDL-C (прямое измерение) в сыворотке крови относительно исходного уровня с течением времени (когорты 1–3) в популяции, фактически получавшей лечение, исследование



ФИГ. 9В

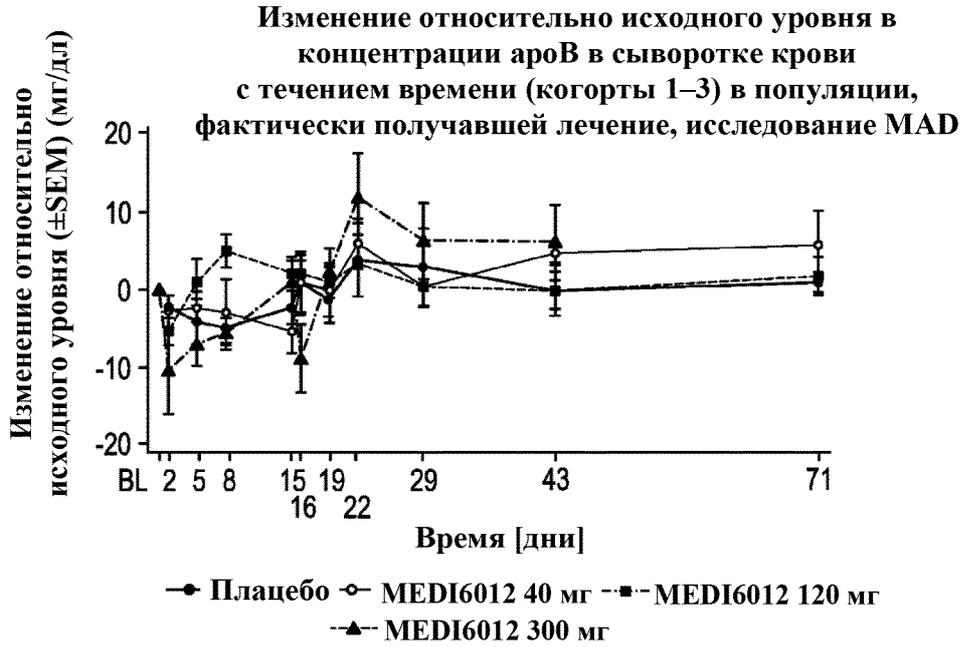
LDL-C AUC 0-96



- Плацебо после введения дозы 1
- Плацебо после введения дозы 3
- ▲ MEDI16012 40 мг после введения дозы 1
- ▼ MEDI16012 40 мг после введения дозы 3
- ◆ MEDI16012 120 мг после введения дозы 1
- MEDI16012 120 мг после введения дозы 3

13/39

ФИГ. 10А



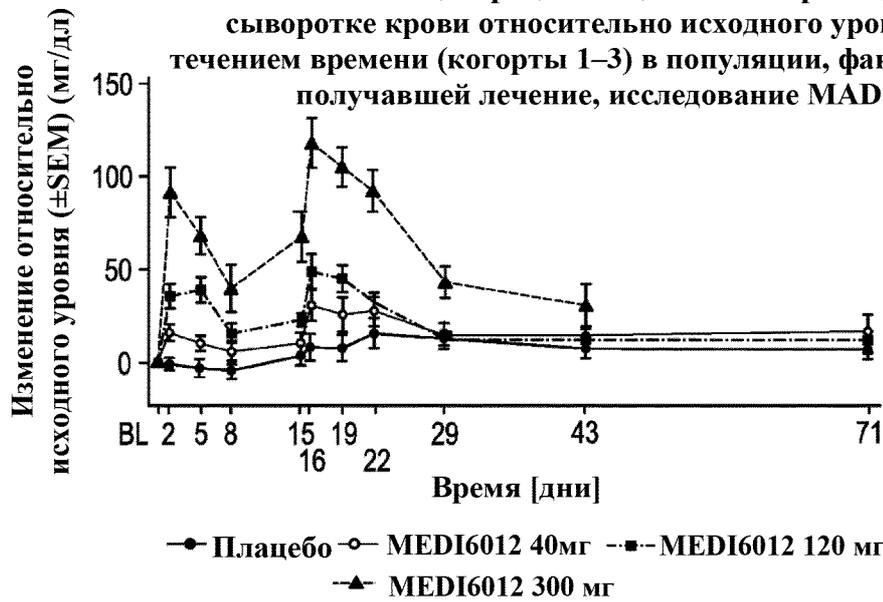
ФИГ. 10В

АроВ AUC 0-96



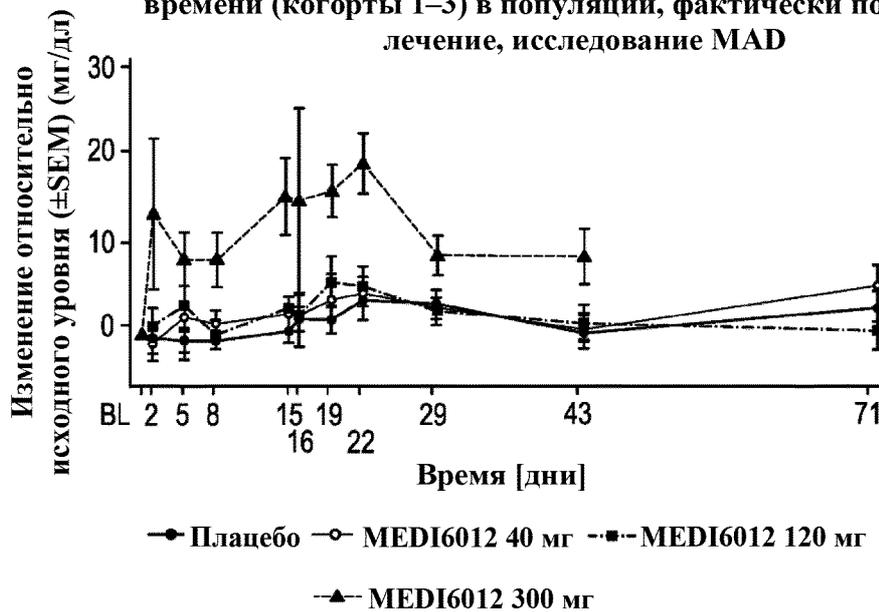
ФИГ. 11А

Изменение концентрации общего холестерина (ТС) в сыворотке крови относительно исходного уровня с течением времени (когорты 1–3) в популяции, фактически получавшей лечение, исследование MAD

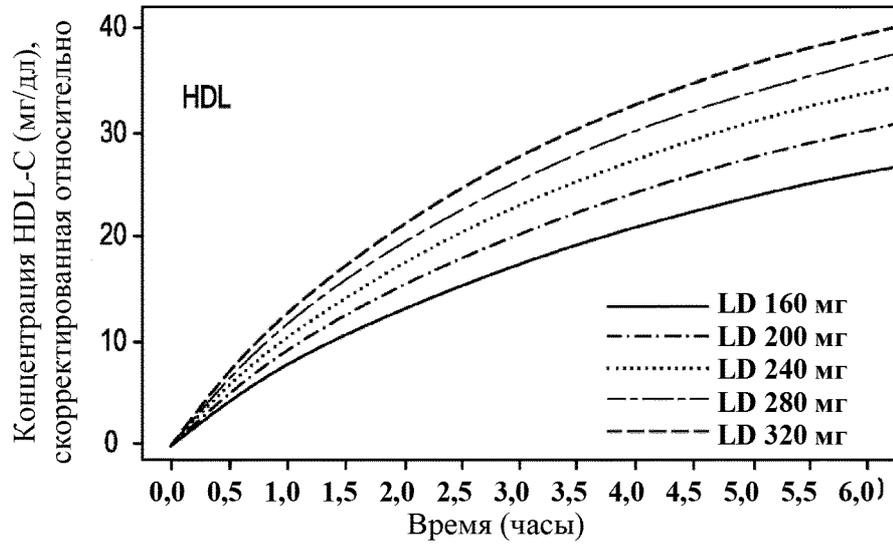


ФИГ. 11В

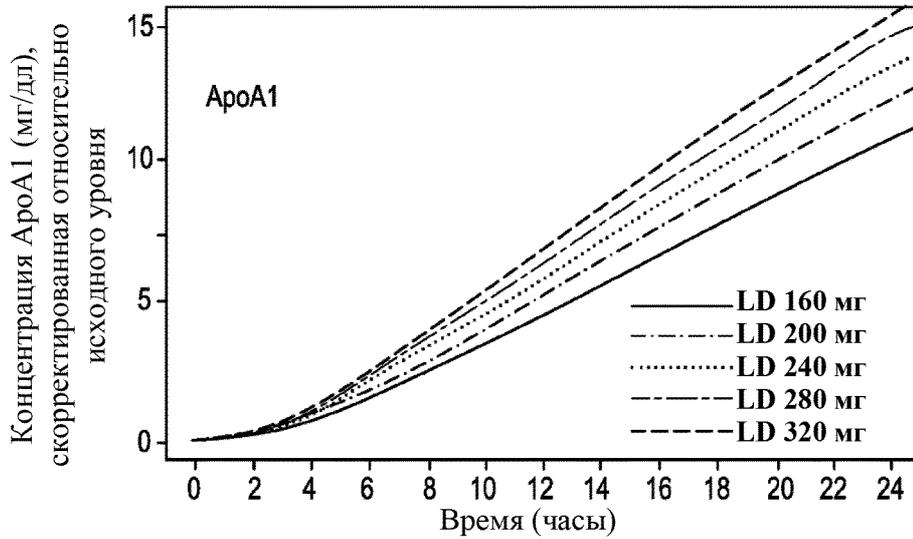
Изменение концентрации свободного холестерина (FC) в сыворотке крови относительно исходного уровня с течением времени (когорты 1–3) в популяции, фактически получавшей лечение, исследование MAD



ФИГ. 12А



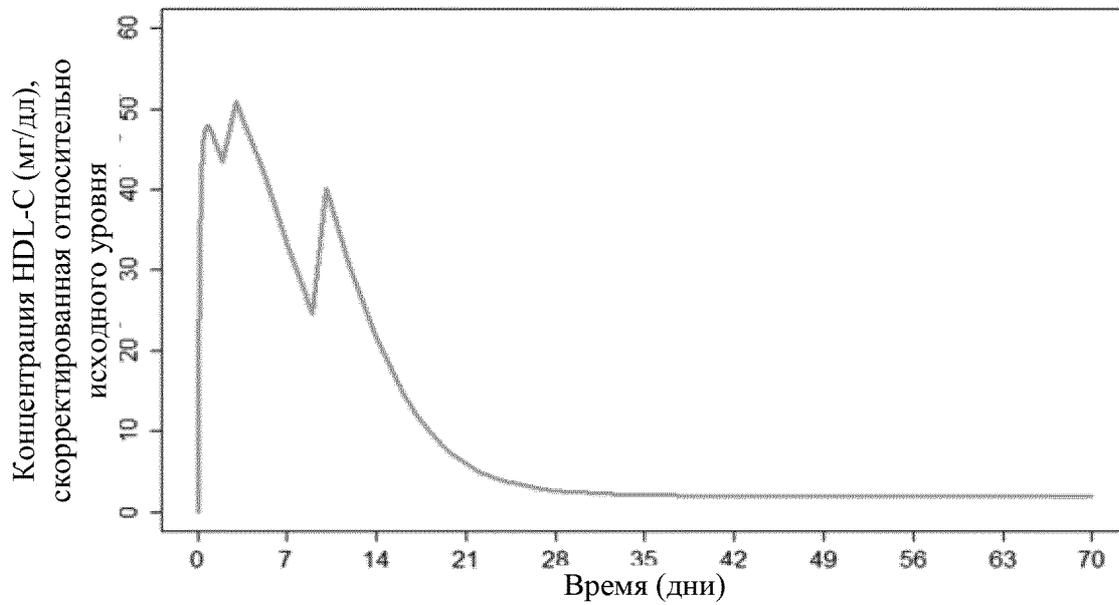
ФИГ. 12В



16/39

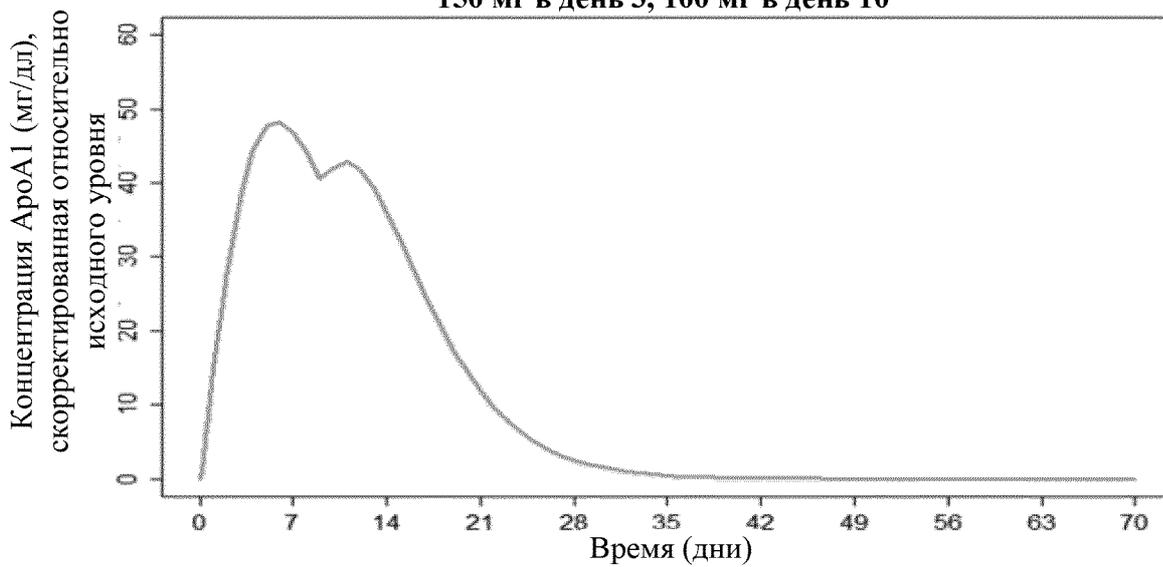
ФИГ. 13А

Концентрация HDL-C, скорректированная относительно исходного уровня, с течением времени при 300 мг в день 1, 150 мг в день 3, 100 мг в день 10



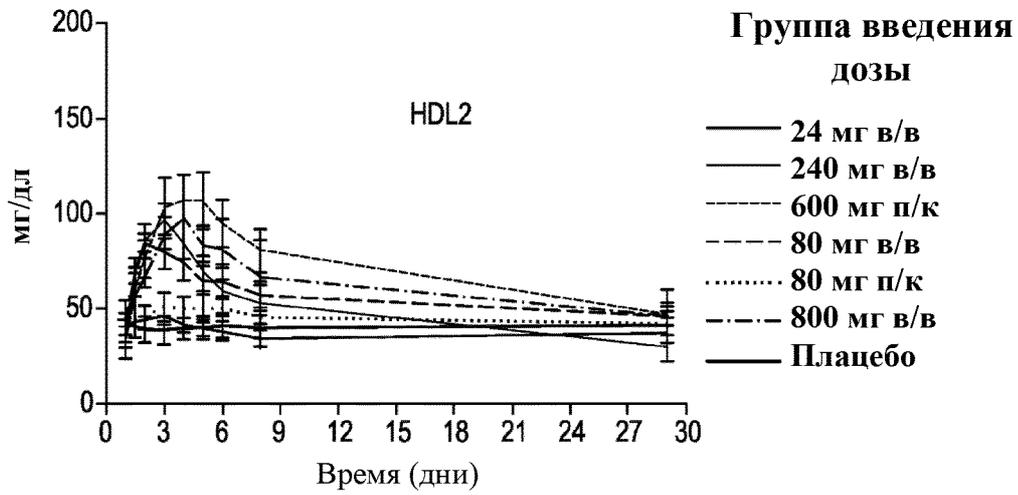
ФИГ. 13В

Концентрация ApoA1, скорректированная относительно исходного уровня, с течением времени при 300 мг в день 1, 150 мг в день 3, 100 мг в день 10

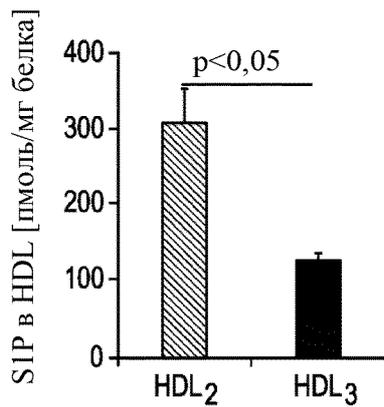


17/39

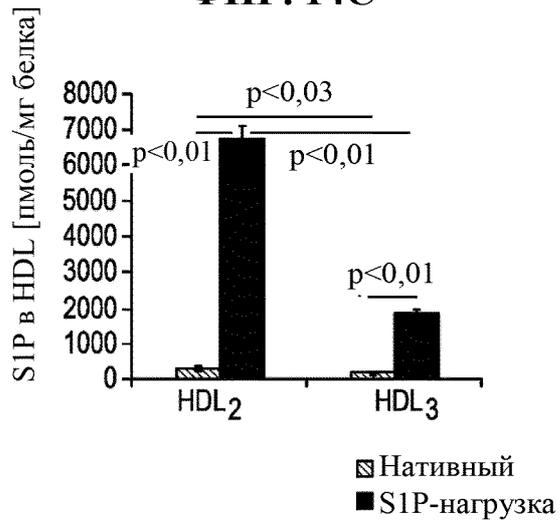
ФИГ. 14А



ФИГ. 14В



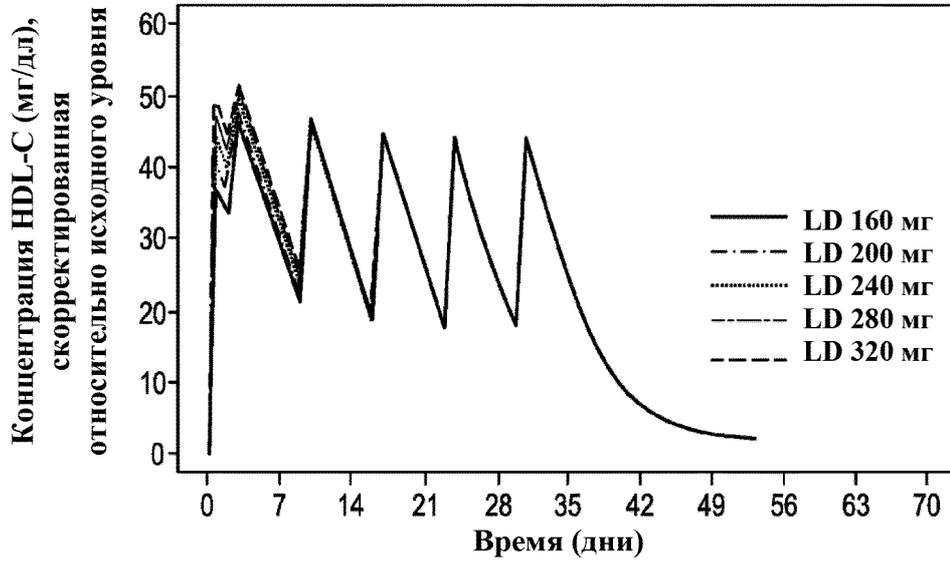
ФИГ. 14С



18/39

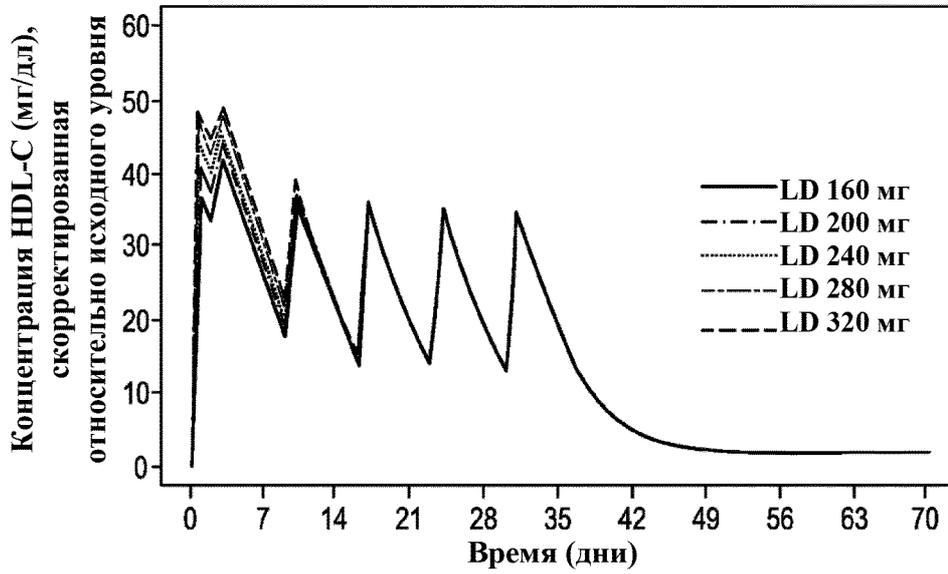
ФИГ. 15А

Поддерживающая доза: 160 мг



ФИГ. 15В

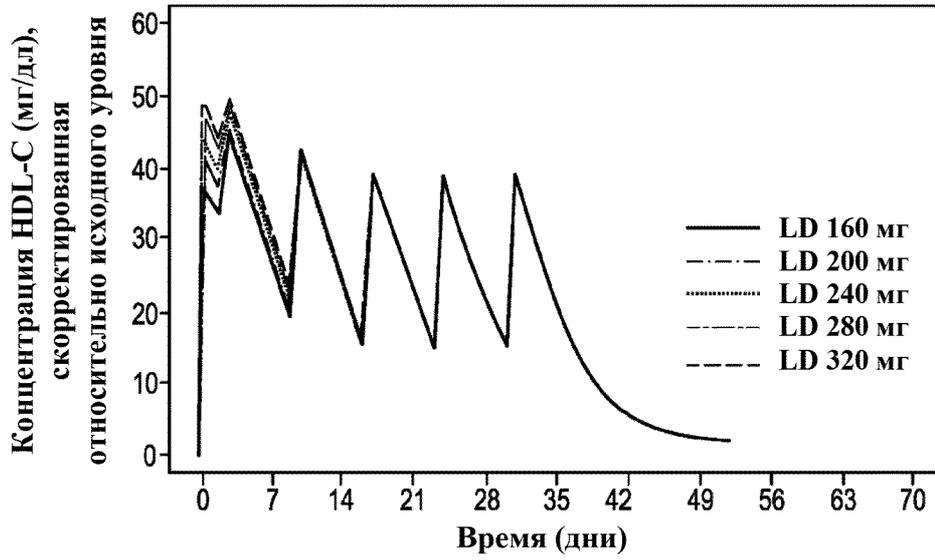
Поддерживающая доза: 100 мг



19/39

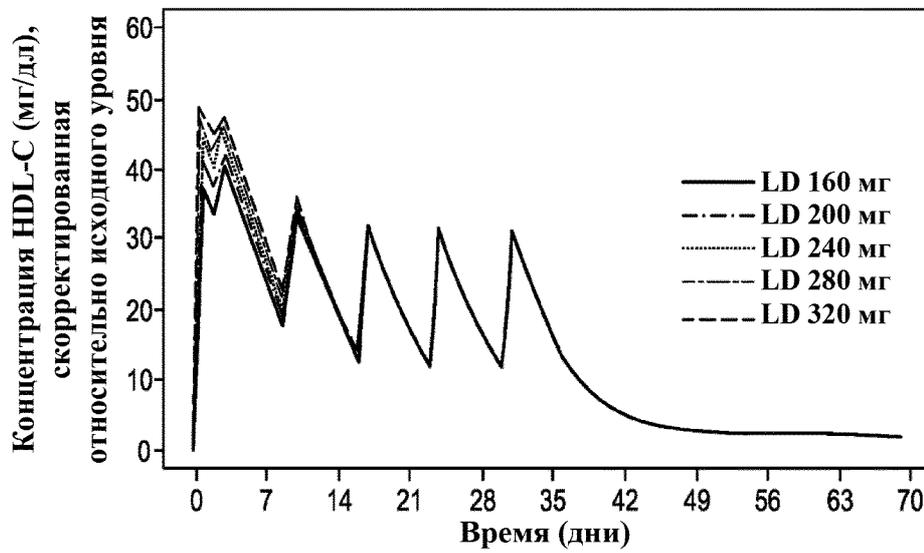
ФИГ. 15С

Поддерживающая доза: 120 мг



ФИГ. 15D

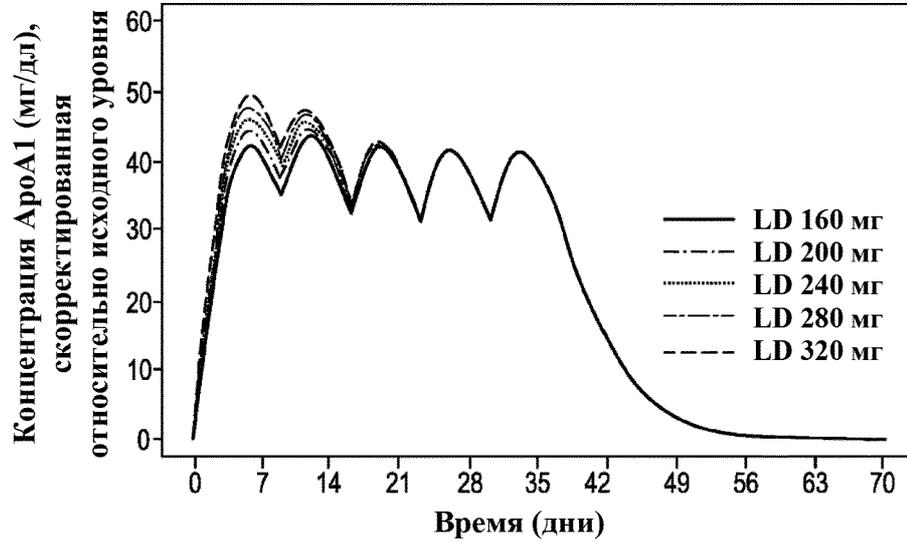
Поддерживающая доза: 80 мг



20/39

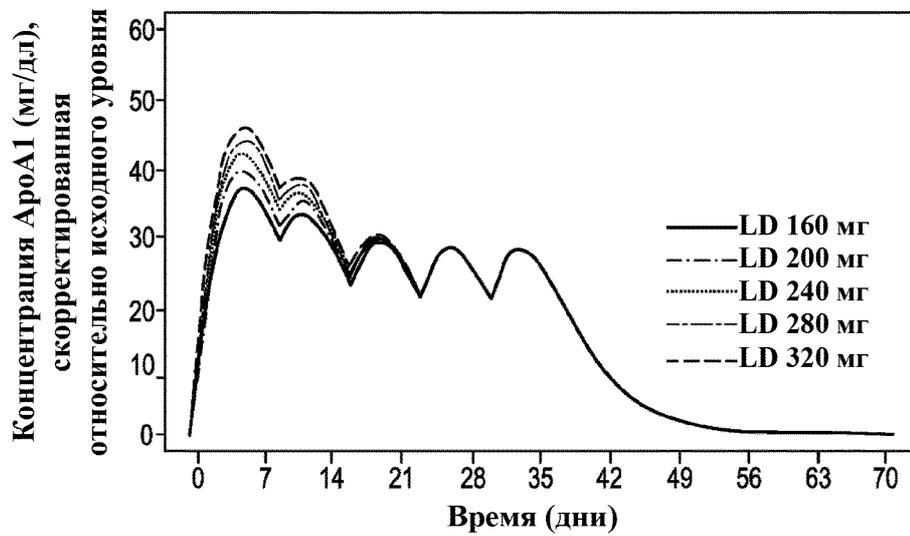
ФИГ. 16А

Поддерживающая доза: 160 мг



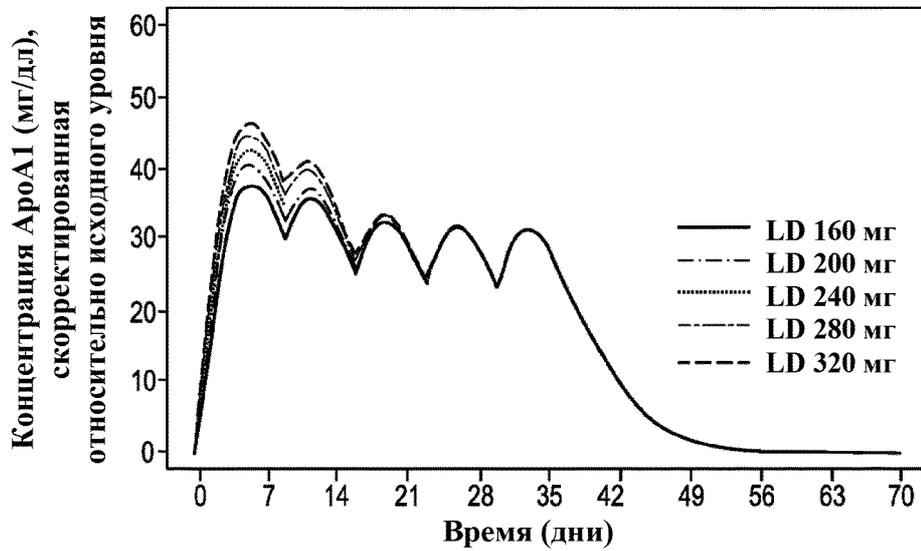
ФИГ. 16В

Поддерживающая доза: 100 мг



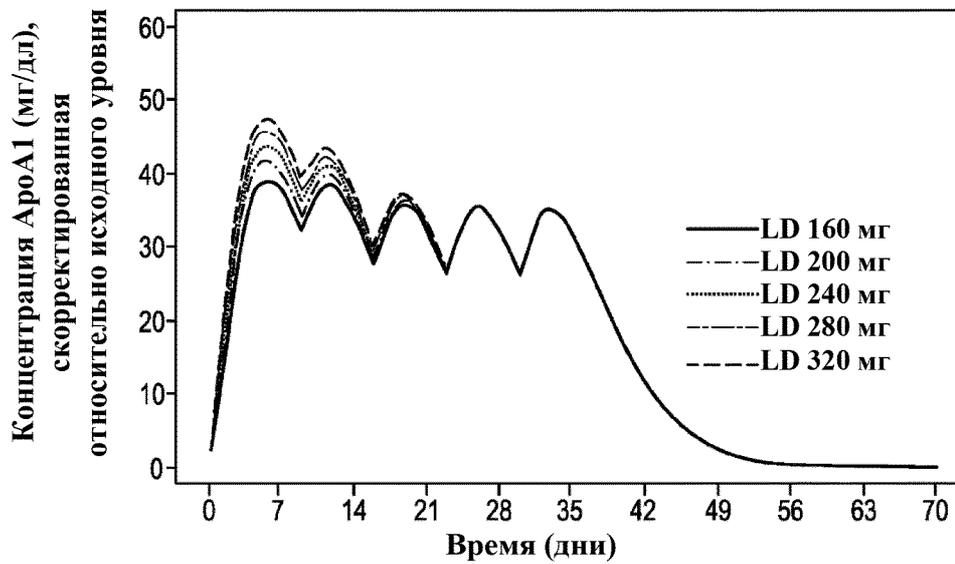
ФИГ. 16С

Поддерживающая доза: 120 мг



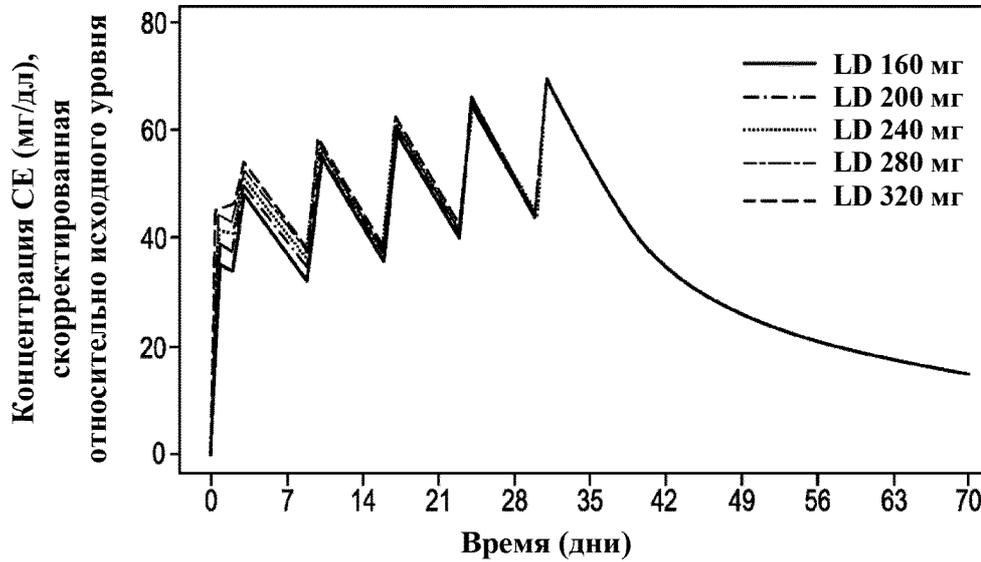
ФИГ. 16D

Поддерживающая доза: 80 мг



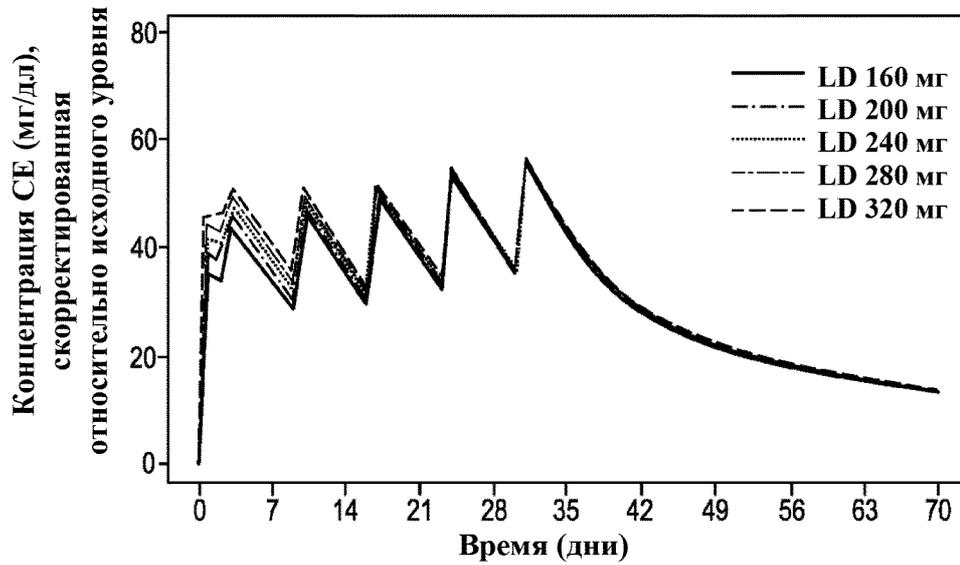
ФИГ. 18А

Поддерживающая доза: 160 мг



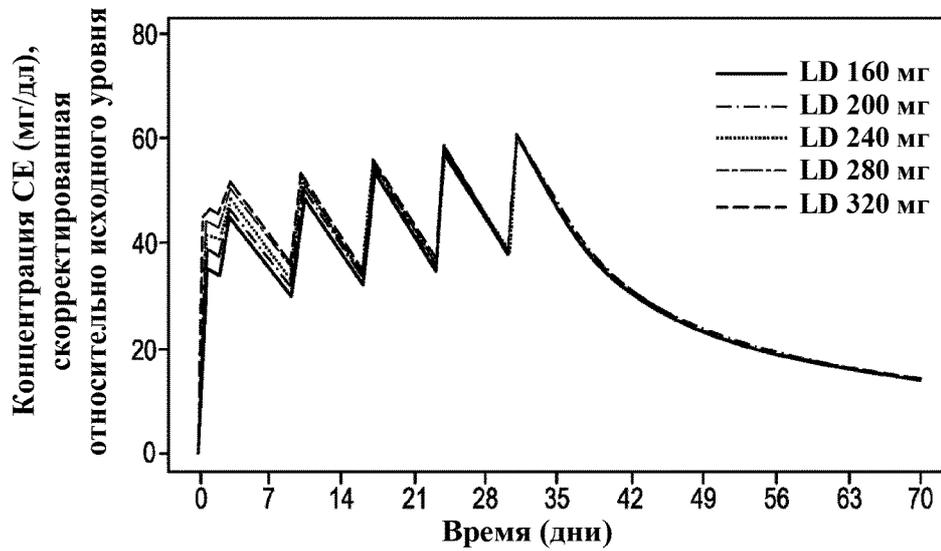
ФИГ. 18В

Поддерживающая доза: 100 мг



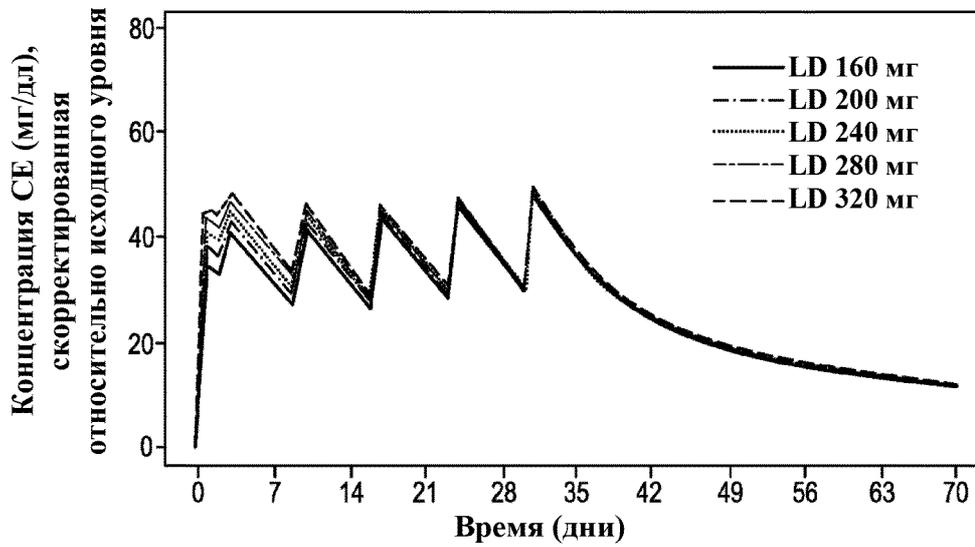
ФИГ. 18С

Поддерживающая доза: 120 мг



ФИГ. 18D

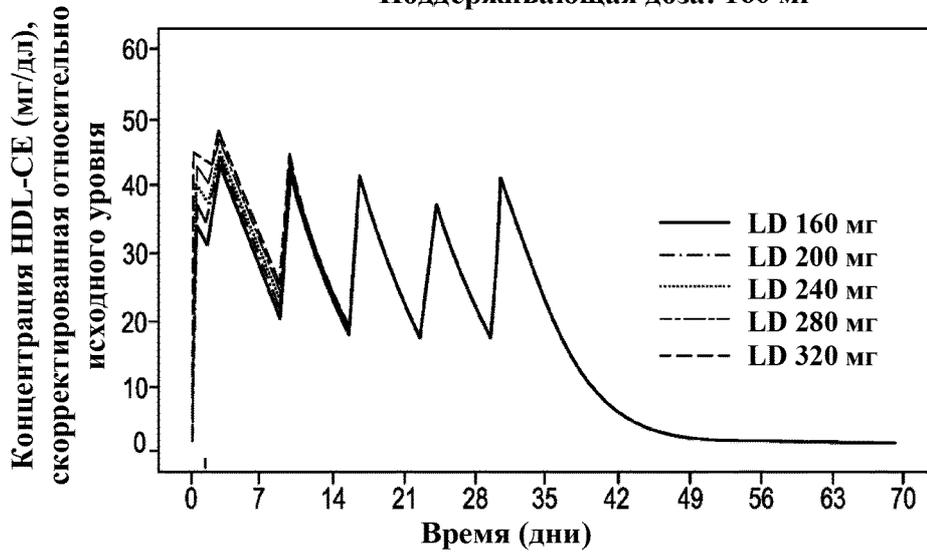
Поддерживающая доза: 80 мг



25/39

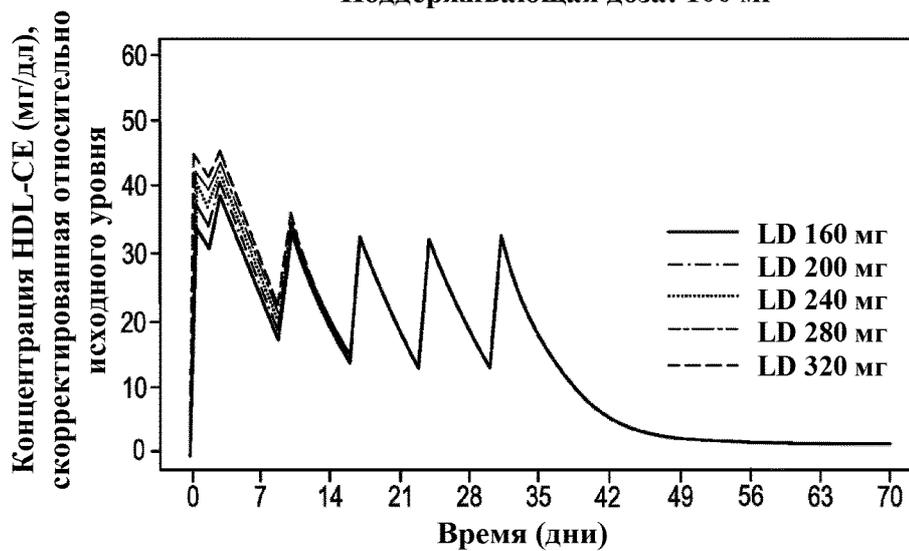
ФИГ. 19А

Поддерживающая доза: 160 мг



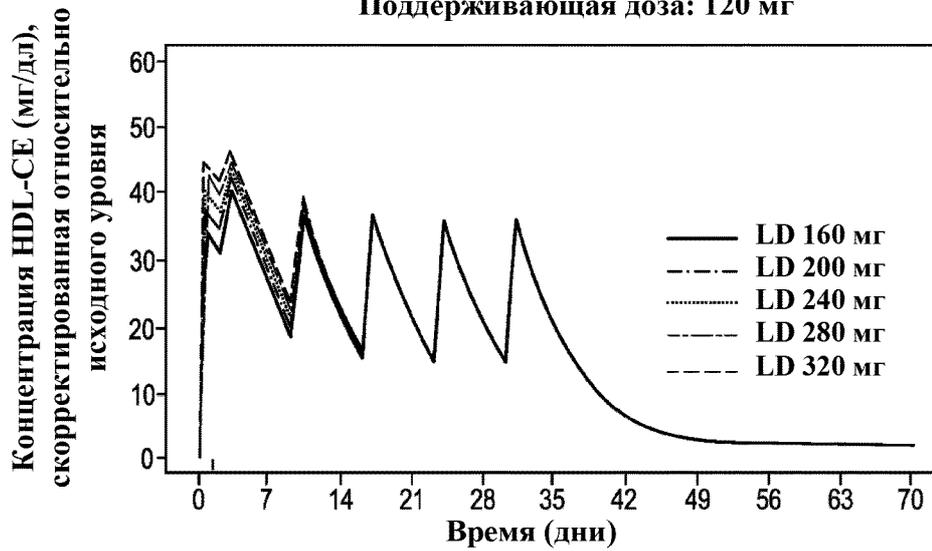
ФИГ. 19В

Поддерживающая доза: 100 мг



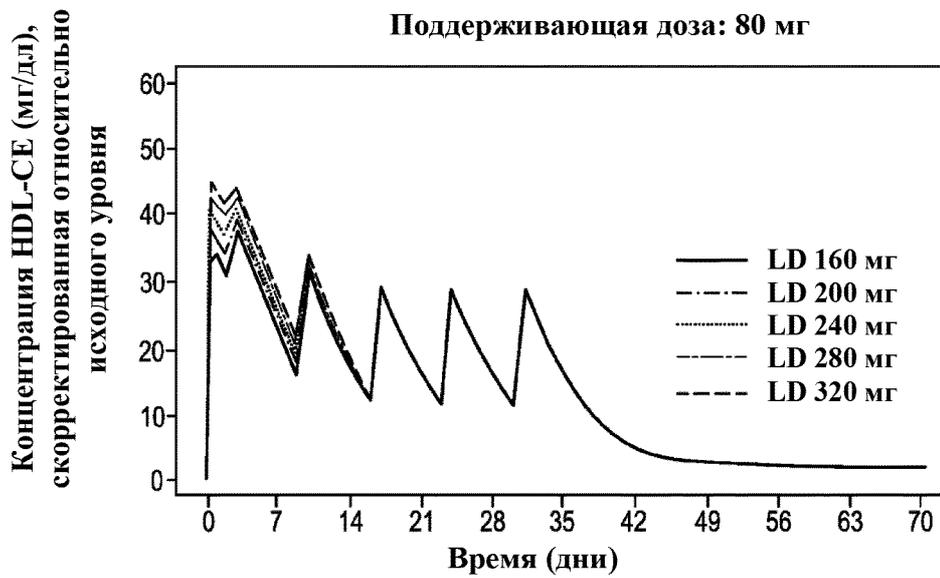
ФИГ. 19С

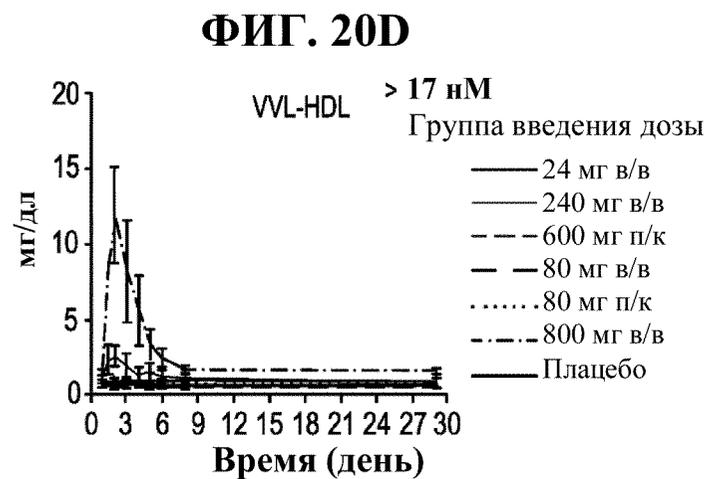
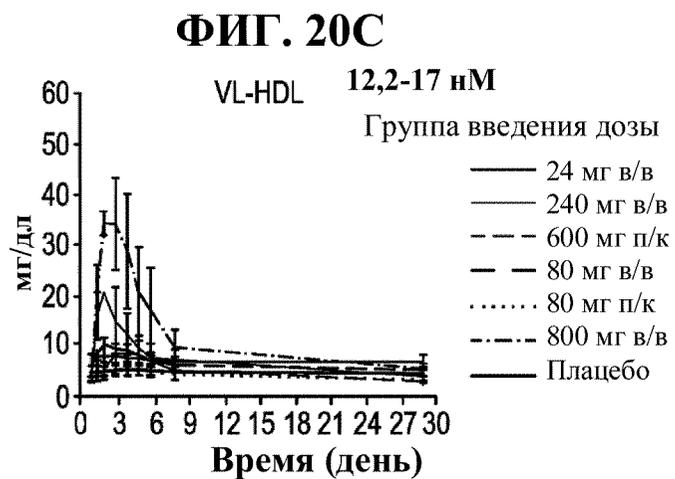
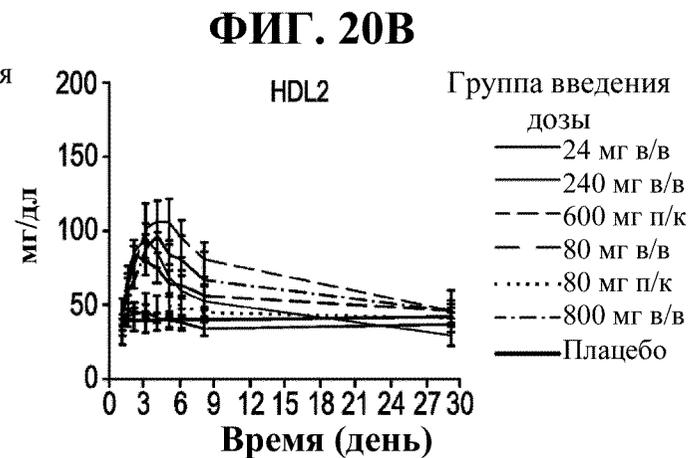
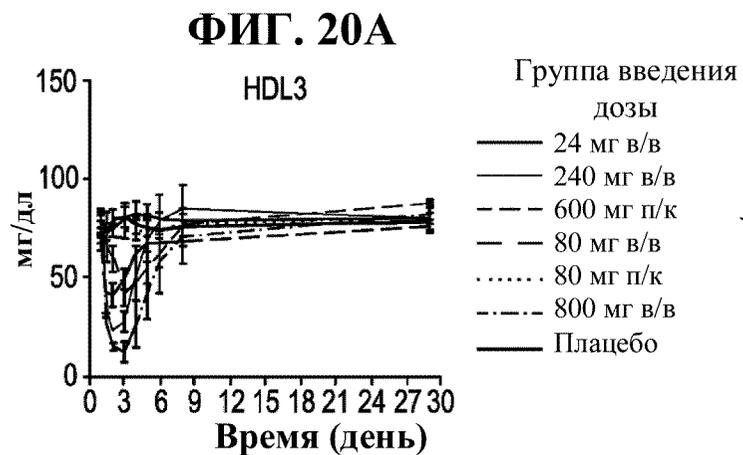
Поддерживающая доза: 120 мг



ФИГ. 19D

Поддерживающая доза: 80 мг





ФИГ. 21С

Интеграция HDL-C и apoA-I в одну модель:

- I** Отток FC из периферических тканей (PFC) к HDL является пропорциональным созреванию HDL из пре β -HDL в α -HDL.

$$\text{Отток} = MR \cdot k_{mat} \cdot \frac{LCAT}{LCAT_{bsl}} \cdot (\text{apoA-I в пре}\beta\text{-HDL})$$

- II** Отток FC из периферических тканей к HDL является пропорциональным концентрации apoA-I в α -HDL и градиенту концентрации между PFC и HDL-FC.

$$\text{Отток} = k_{grad} \cdot (\text{PFC} - \text{HDL-FC}) \cdot (\text{apoA-I в } \alpha\text{-HDL})$$

- III** Захват HDL-FC и HDL-CE в печени в зависимости от ApoA-I в α -HDL, представленный посредством сигмоидальной модели Emax.

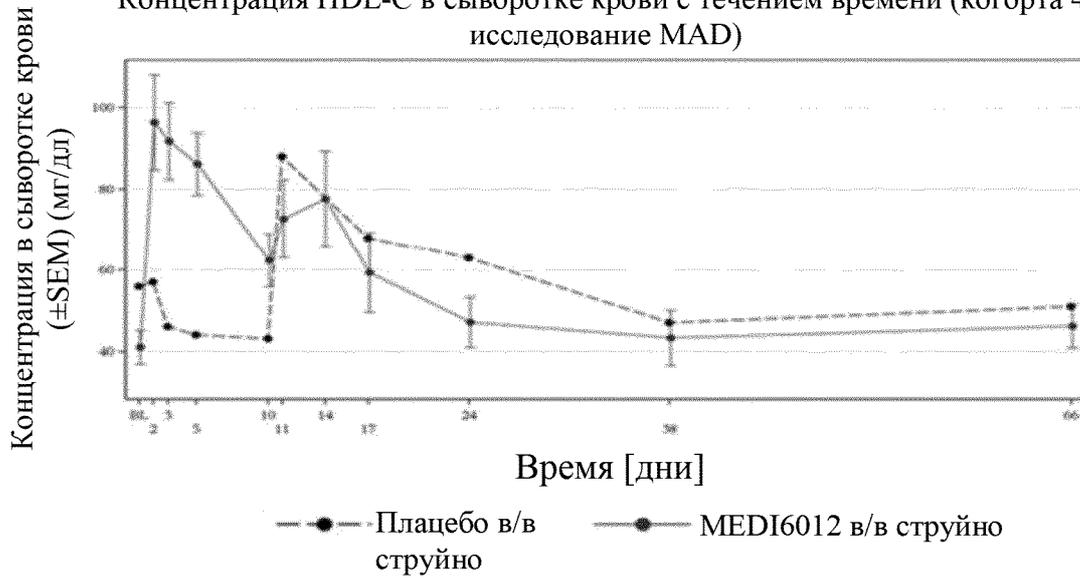
$$k_{out} = k_{max} \cdot \frac{(\text{ApoA-I} / \text{ApoA-I}_{bsl})^{\gamma}}{(\text{ApoA-I} / \text{ApoA-I}_{bsl})^{\gamma} + KmA^{\gamma}}$$

(Из Bosch, R. et al., Poster Presentation at 2015 PAGE Meeting, Crete, Greece)

30/39

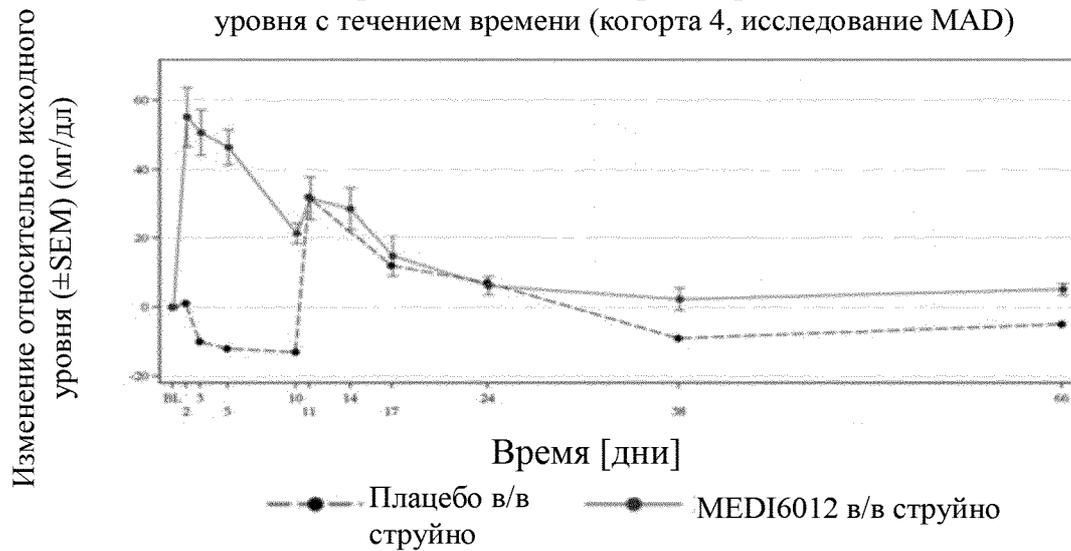
ФИГ. 22А

Концентрация HDL-C в сыворотке крови с течением времени (когорта 4, исследование MAD)

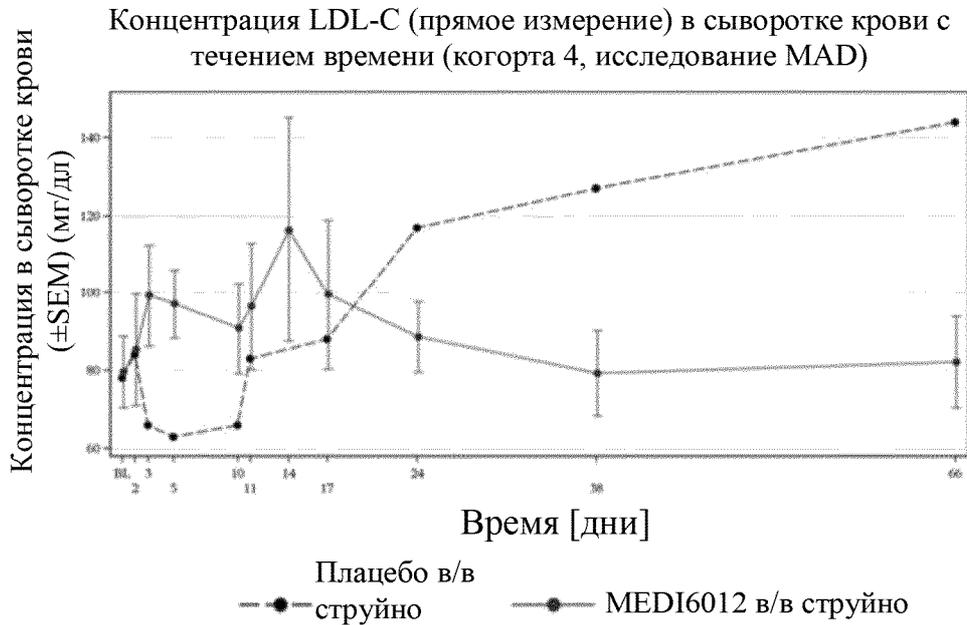


ФИГ. 22В

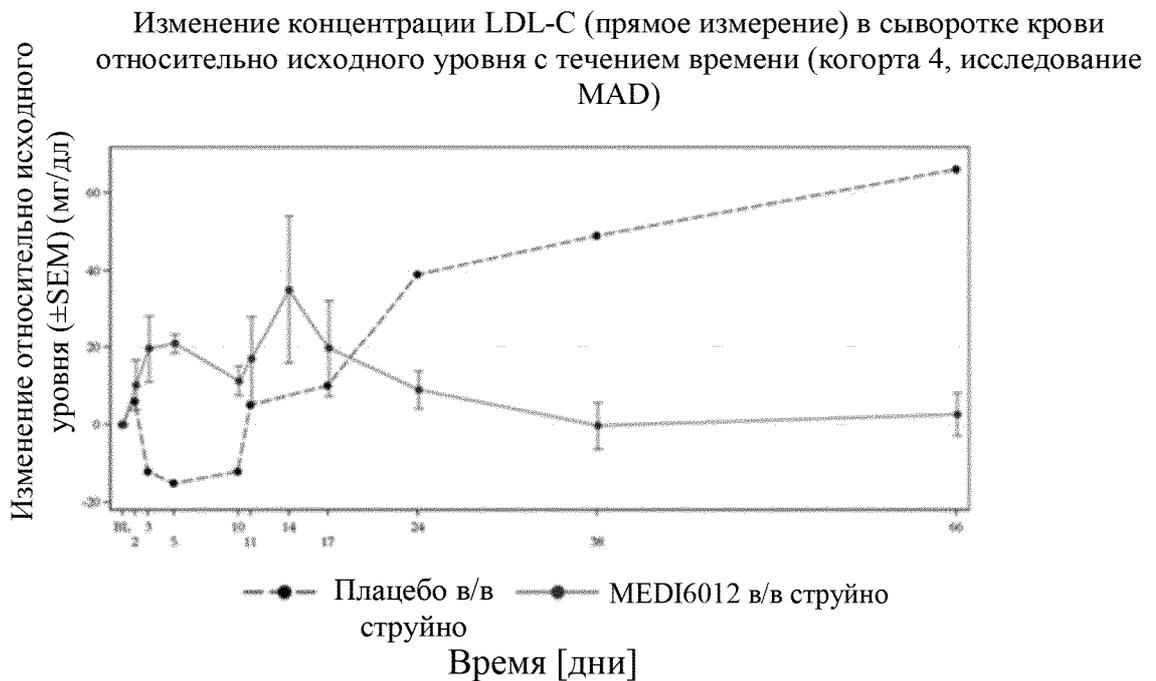
Изменение концентрации HDL-C в сыворотке крови относительно исходного уровня с течением времени (когорта 4, исследование MAD)



ФИГ. 23А

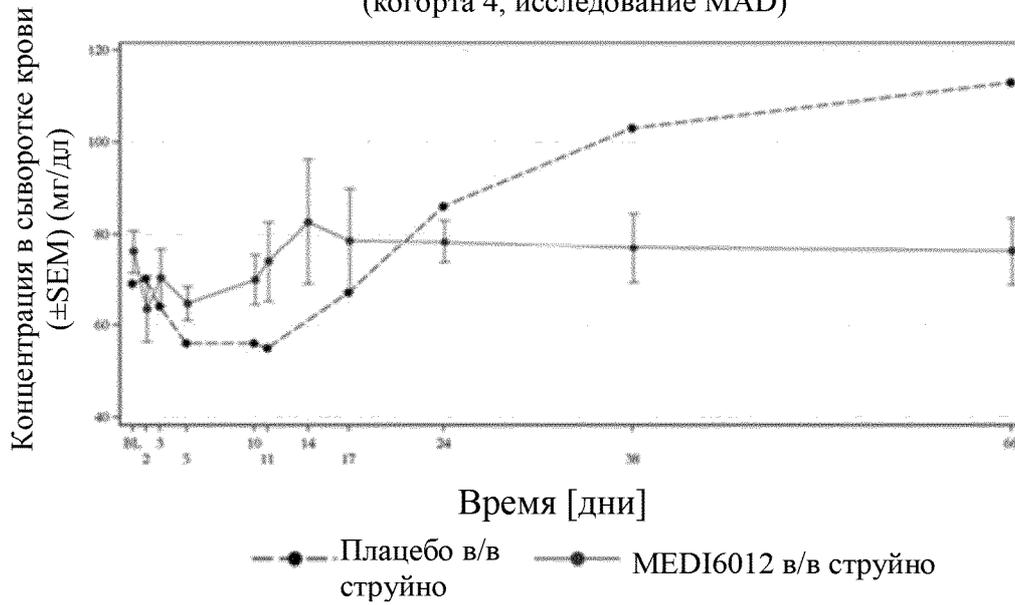


ФИГ. 23В



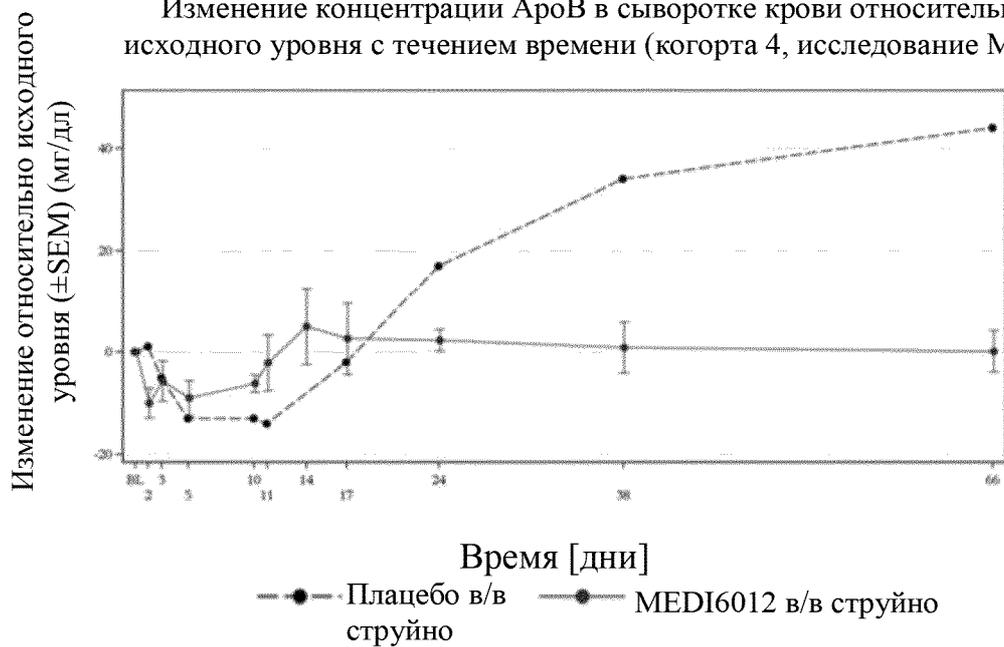
ФИГ. 24А

Концентрация АроВ в сыворотке крови с течением времени
(когорта 4, исследование MAD)



ФИГ. 24В

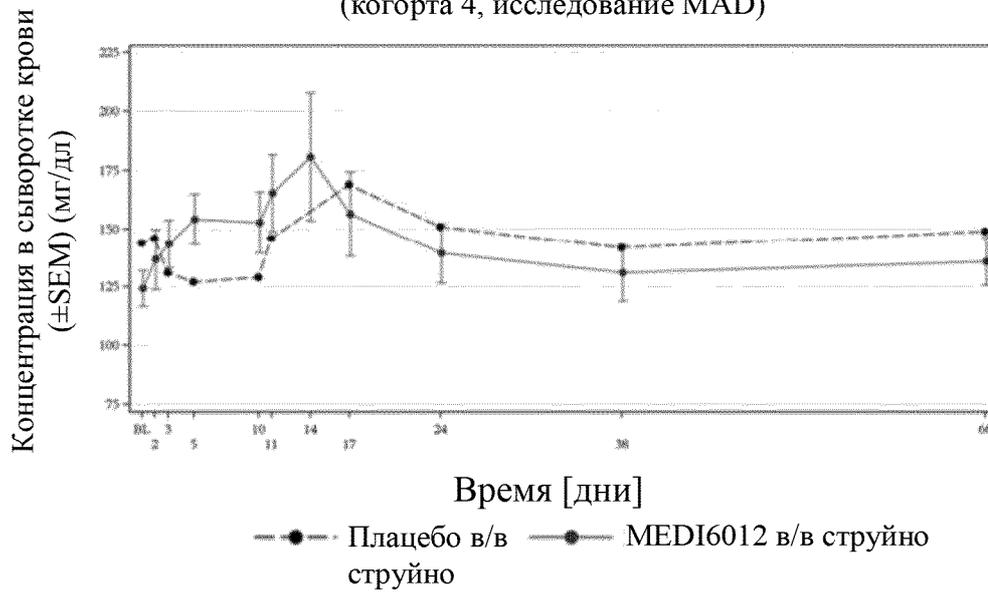
Изменение концентрации АроВ в сыворотке крови относительно
исходного уровня с течением времени (когорта 4, исследование MAD)



33/39

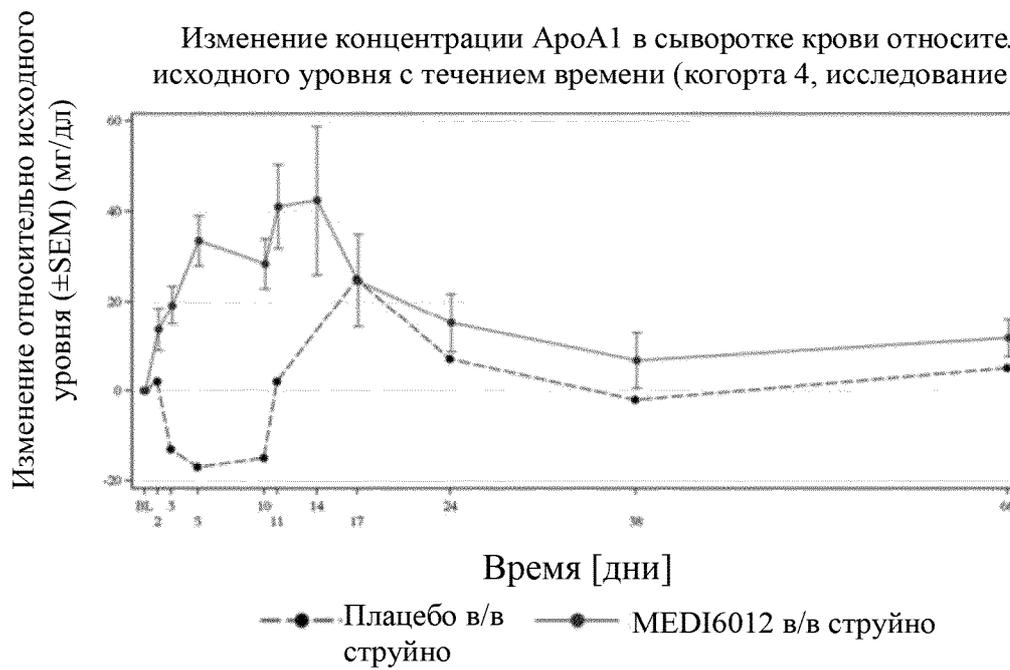
ФИГ. 25А

Концентрация АроА1 в сыворотке крови с течением времени
(когорта 4, исследование MAD)



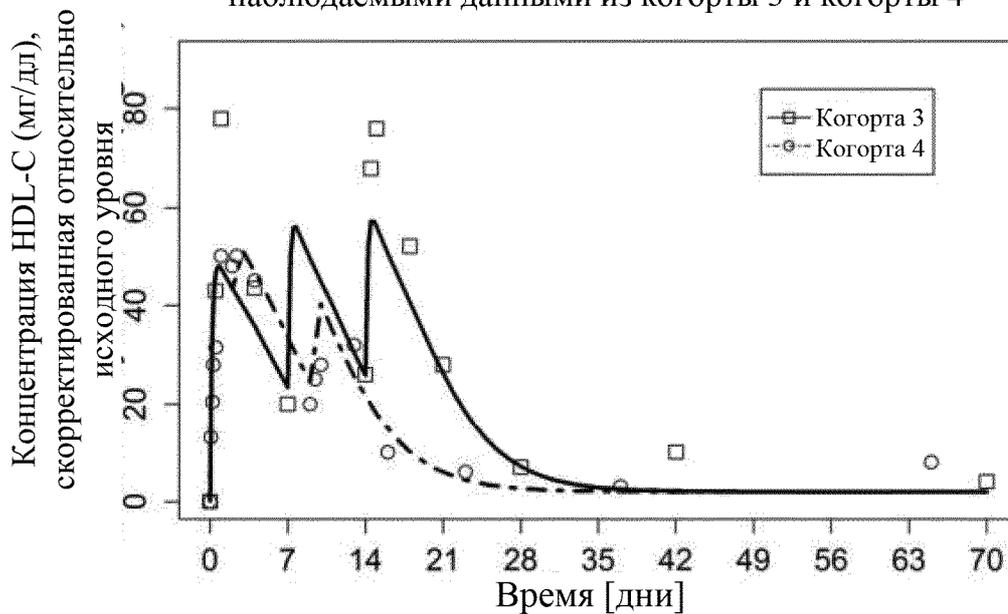
ФИГ. 25В

Изменение концентрации АроА1 в сыворотке крови относительно
исходного уровня с течением времени (когорта 4, исследование MAD)



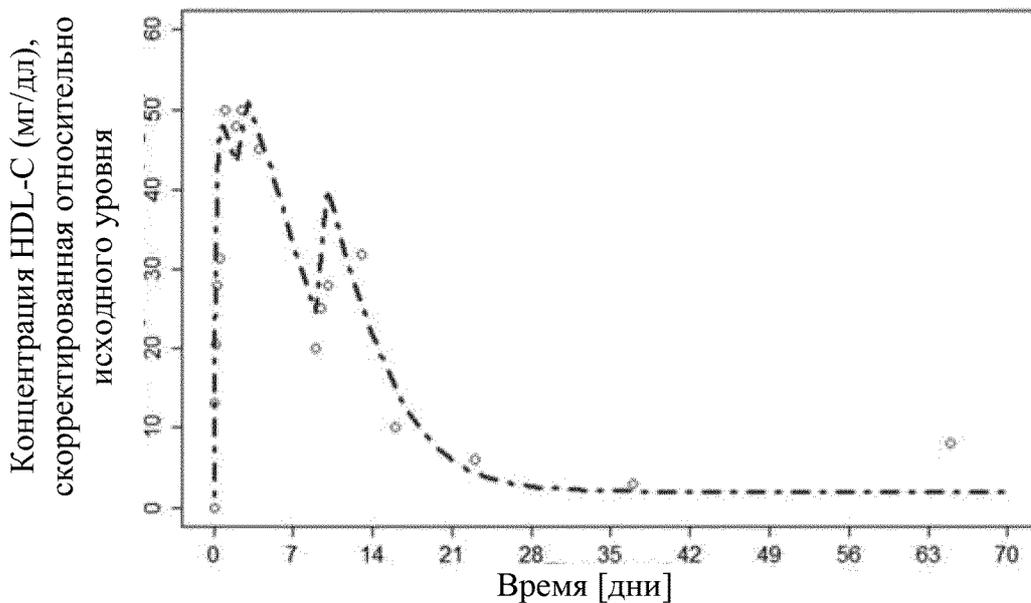
ФИГ. 26А

Модель прогнозируемых данных по сравнению с
наблюдаемыми данными из когорты 3 и когорты 4



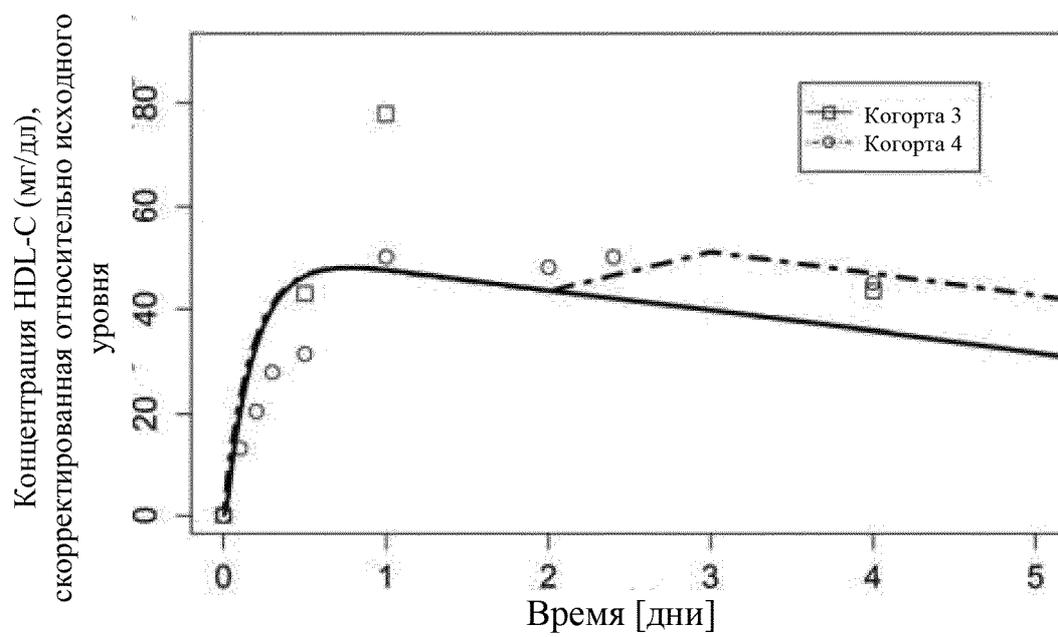
ФИГ. 26В

Модель прогнозируемых данных по сравнению с
наблюдаемыми данными из когорты 4



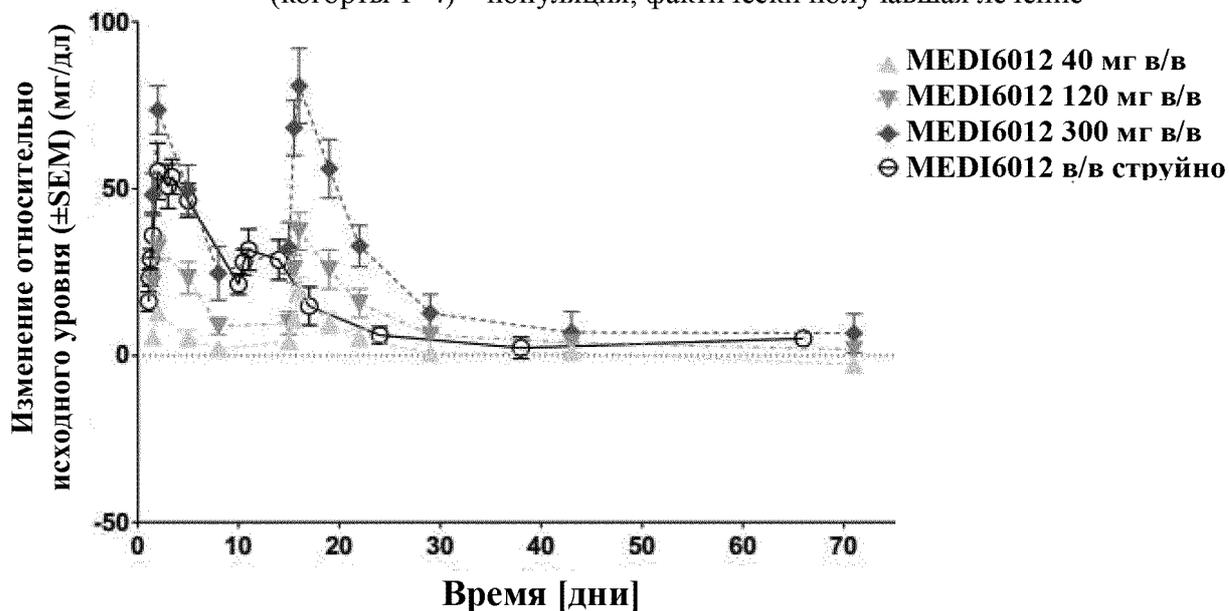
ФИГ. 26С

Модель прогнозируемых данных по сравнению с наблюдаемыми данными
из когорты 3 и когорты 4



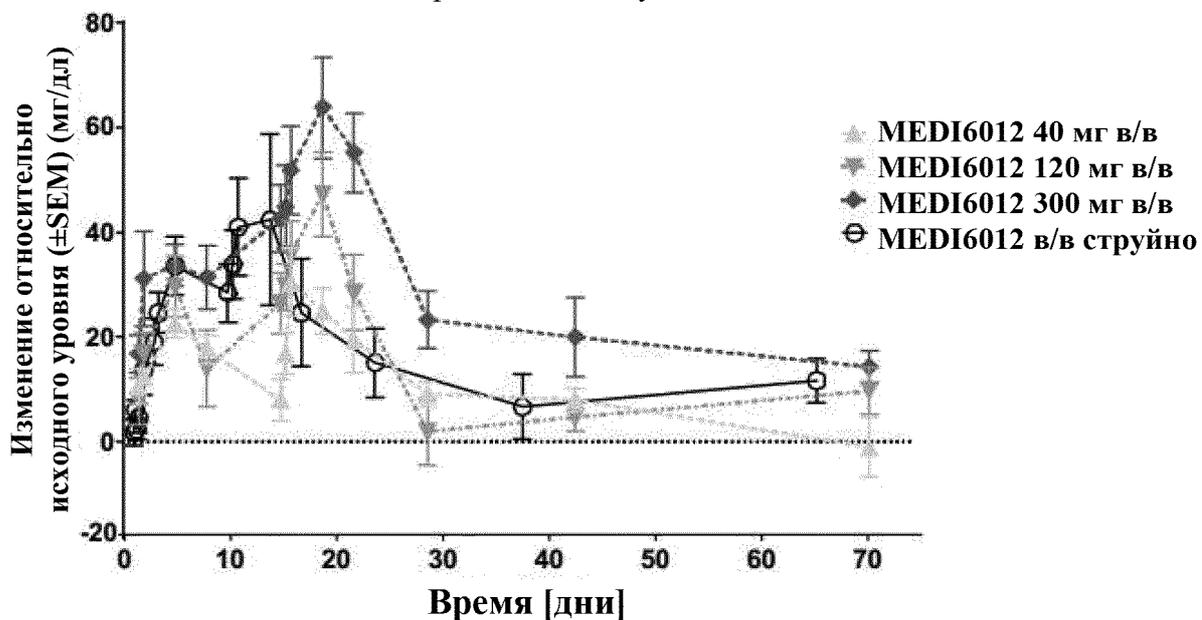
ФИГ. 27А

Изменение относительно исходного уровня в концентрации холестерина
липопротеинов высокой плотности в сыворотке крови с течением времени
(когорты 1–4) – популяция, фактически получавшая лечение



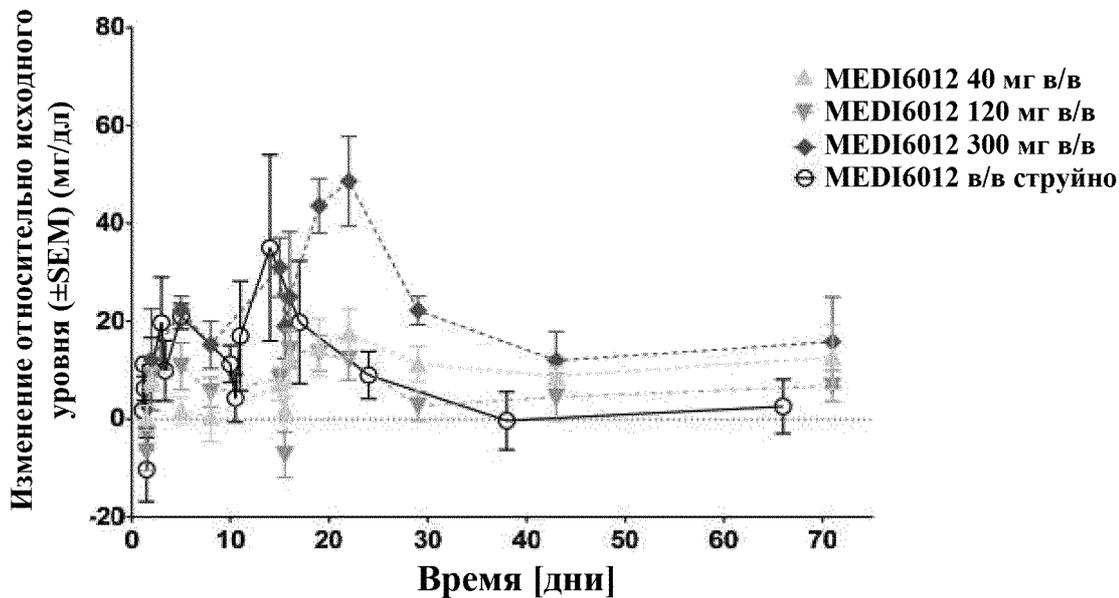
ФИГ. 27В

Изменение относительно исходного уровня в концентрации аполипопротеина
A1 в сыворотке крови с течением времени (когорты 1–4) – популяция,
фактически получавшая лечение



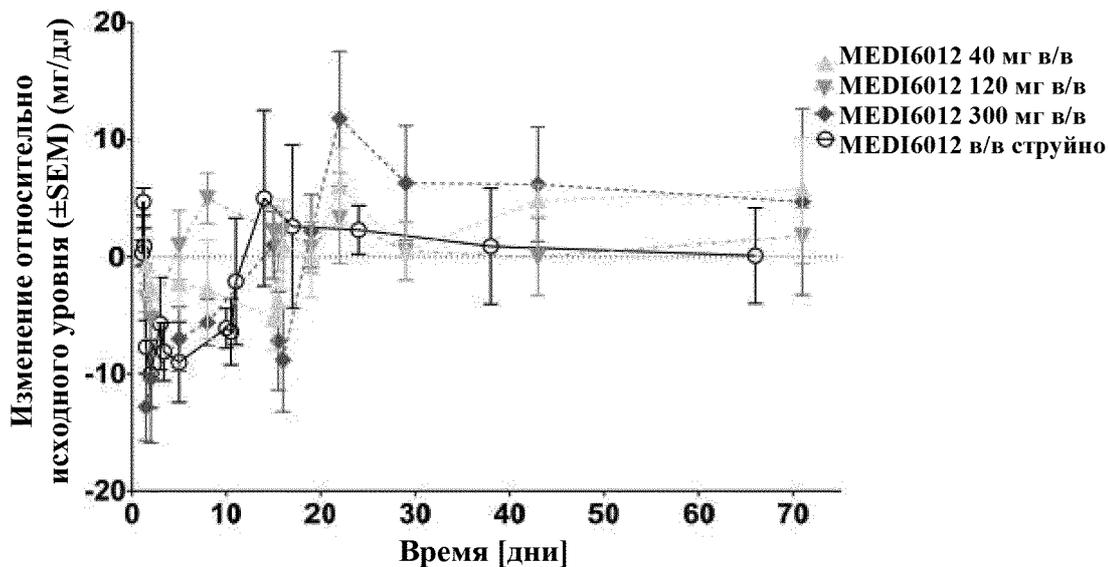
ФИГ. 27С

Изменение относительно исходного уровня в концентрации холестерина (прямое измерение) липопротеинов низкой плотности в сыворотке крови с течением времени (когорты 1–4) – популяция, фактически получавшая лечение



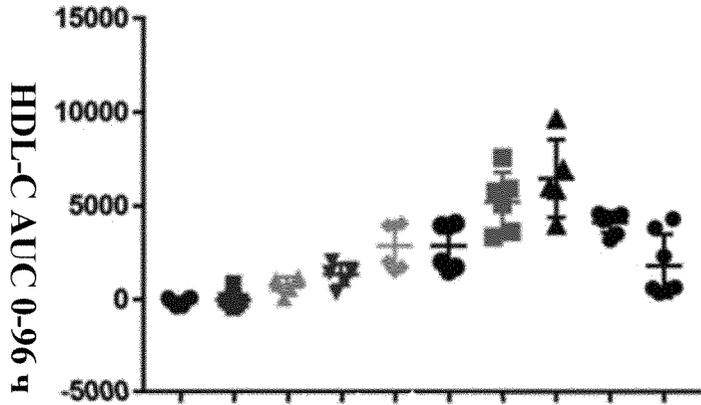
ФИГ. 27D

Изменение относительно исходного уровня в концентрации аполипопротеина В в сыворотке крови с течением времени (когорты 1–4) – популяция, фактически получавшая лечение



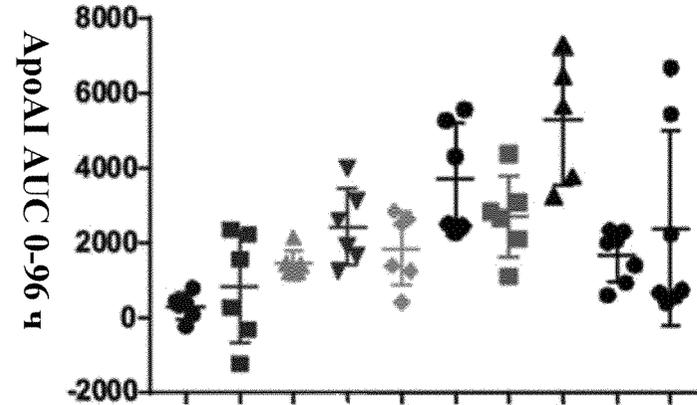
ФИГ. 28А

HDL-C AUC 0-96 ч



ФИГ. 28В

ApoA1 AUC 0-96 ч

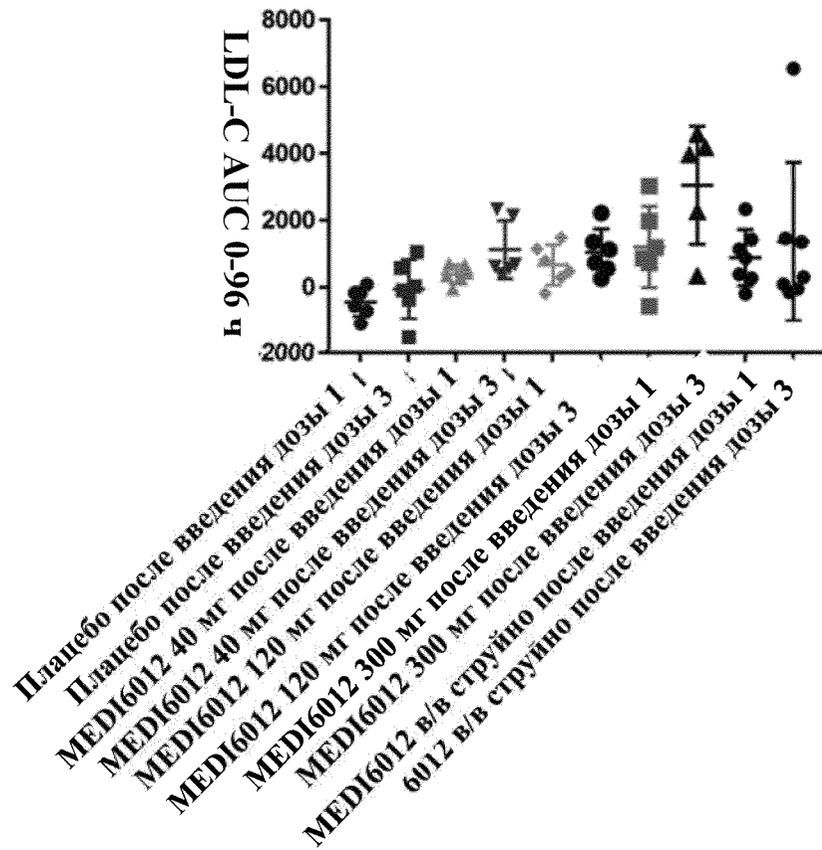


Плацебо после введения дозы 1
Плацебо после введения дозы 3
MED16012 40 мг после введения дозы 1
MED16012 40 мг после введения дозы 3
MED16012 120 мг после введения дозы 1
MED16012 120 мг после введения дозы 3
MED16012 300 мг после введения дозы 1
MED16012 300 мг после введения дозы 3
MED16012 300 мг в/в струйно после введения дозы 1
MED16012 300 мг в/в струйно после введения дозы 3

Плацебо после введения дозы 1
Плацебо после введения дозы 3
MED16012 40 мг после введения дозы 1
MED16012 40 мг после введения дозы 3
MED16012 120 мг после введения дозы 1
MED16012 120 мг после введения дозы 3
MED16012 300 мг после введения дозы 1
MED16012 300 мг после введения дозы 3
MED16012 300 мг в/в струйно после введения дозы 1
MED16012 300 мг в/в струйно после введения дозы 3

ФИГ. 28С

LDL-C AUC 0-96 ч



ФИГ. 28D

ApoB AUC 0-96 ч

