



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.11.07

(21) Номер заявки
201890519

(22) Дата подачи заявки
2016.08.17

(51) Int. Cl. **C07K 16/40** (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(54) ИНГИБИРУЮЩИЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ PCSK9 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРЛИПИДЕМИЕЙ ПОДВЕРГАЮЩИХСЯ АФЕРЕЗУ ЛИПОПРОТЕИНОВ

(31) 62/206,326; 62/264,361; 62/270,790;

62/291,571; 62/311,455; 62/367,374

(32) 2015.08.18; 2015.12.08; 2015.12.22;
2016.02.05; 2016.03.22; 2016.07.27

(33) US

(43) 2018.07.31

(86) PCT/US2016/047257

(87) WO 2017/031151 2017.02.23

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

РИДЖЕНЕРОН

ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

**Порди Роберт К., Манвелиан Гарен
(US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(56) Anonymous: "NCT02326220 on 2014_12_28: ClinicalTrials.gov Archive", 28 December 2014 (2014-12-28), XP055317005, Retrieved from the Internet: URL: https://clinicaltrials.gov/archive/NCT02326220/2014_12_28 [retrieved on 2016-11-07] the whole document

Anonymous: "NCT02326220 on 2015_03_10: ClinicalTrials.gov Archive", 10 March 2015 (2015-03-10), XP055317007, Retrieved from the Internet: URL: https://clinicaltrials.gov/archive/NCT02326220/2015_03_10 [retrieved on 2016-11-07]

Anonymous: "NCT02326220 on 2015_04_07: ClinicalTrials.gov Archive", 7 April 2015

(2015-04-07), XP055317011, Retrieved from the Internet: URL: https://clinicaltrials.gov/archive/NCT02326220/2015_04_07 [retrieved on 2016-11-07]

JOHN J. P. KASTELEIN ET AL: "Efficacy and Safety of Alirocumab in Patients with Heterozygous Familial Hypercholesterolemia not Adequately Controlled with Current Lipid-Lowering Therapy: Design and Rationale of the ODYSSEY FH Studies", *CARDIOVASCULAR DRUGS AND THERAPY*, vol. 28, no. 3, 20 May 2014 (2014-05-20), pages 281-289, XP055187777, ISSN: 0920-3206, DOI: 10.1007/s10557-014-6523-z abstract; figure 1

PATRICK M MORIARTY: "PCSK9 Inhibitors and their effect on Patients who are Statin Intolerant or Receiving Lipoprotein-apheresis", 10TH INTERNATIONAL SOCIETY FOR APHERESIS CONGRESS, 29 May 2015 (2015-05-29), XP55317363, Cancun, Mexico the whole document

SAHEBKAR AMIRHOSSEIN ET AL: "New LDL-Cholesterol Lowering Therapies: Pharmacology, Clinical Trials, and Relevance to Acute Coronary Syndromes", *CLINICAL THERAPEUTICS*, vol. 35, no. 8, 8 August 2013 (2013-08-08), pages 1082-1098, XP028696936, ISSN: 0149-2918, DOI: 10.1016/J.CLINATHERA.2013.06.019 abstract; table 1

Gina Kolata: "Praluent Looks Cheap to Those With Extreme Cholesterol - The New York Times", *The New York Times*, 27 July 2015 (2015-07-27), XP055317108, Retrieved from the Internet: URL: http://www.nytimes.com/2015/07/28/health/praluent-looks-cheap-to-those-with-extreme-cholesterol.html?_r=0 [retrieved on 2016-11-08] the whole document

(57) Настоящее изобретение предоставляет способы снижения или устранения потребности пациента в терапии с аферезом липопротеинов. Способы настоящего изобретения включают введение пациенту фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PCSK9 представляет собой антитело против PCSK9. Способы настоящего изобретения являются применимыми для лечения пациентов с гиперлипидемией и относящимися к ней состояниями, которые в рассматриваемое время подвергаются лечению с использованием схемы лечения, включающей аферез липопротеинов (например, аферез LDL или аферез Lp(a)).

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к области терапевтических воздействий на заболевания и расстройства, которые ассоциированы с повышенными уровнями липидов и липопротеинов. Более конкретно, изобретение относится к применению ингибиторов PCSK9 для лечения пациентов с гиперлипидемией и относящимися к ней состояниями, которые в рассматриваемое время подвергаются лечению с использованием режима лечения, включающего аферез липопротеинов (например, аферез LDL или аферез Lp(a)).

Предшествующий уровень техники

Гиперлипидемия представляет собой общий термин, который охватывает заболевания и расстройства, характеризуемые повышенными уровнями липидов и/или липопротеинов в крови, или ассоциированные с ними. Гиперлипидемии включают гиперхолестеринемию, гипертриглицеридемию, комбинарованную гиперлипидемию и повышенный липопротеин а (Lp(a)). Конкретной преобладающей формой гиперлипидемии во многих популяциях является гиперхолестеринемия.

Гиперхолестеринемия, конкретно, увеличение уровня холестерина (LDL-C) в липопротеинах низкой плотности (LDL), составляет основной риск для развития атеросклероза и коронарной болезни сердца (CHD) (Sharrett et al., 2001, *Circulation* 104:1108-1113). Холестерин липопротеинов низкой плотности идентифицируют в качестве первоочередной мишени холестеринснижающей терапии и он принят в качестве правомерной суррогатной терапевтической конечной точки. Многочисленные исследования продемонстрировали, что снижение уровней LDL-C понижает риск CHD вместе с сильной прямой взаимосвязью между уровнями LDL-C и событиями CHD; для каждого снижения LDL-C на 1 ммоль/л (~40 мг/дл), смертность и заболеваемость от сердечнососудистого заболевания (CVD) понижаются на 22%. Более высокие снижения LDL-C производят большее уменьшение частоты событий, и сравнительные данные интенсивной терапии статинами в сравнении со стандартным лечением позволяют предположить, что чем ниже уровень LDL-C, тем выше благоприятное воздействие у пациентов с очень высоким риском сердечно-сосудистого заболевания (CV).

Семейная гиперхолестеринемия (FH) является наследственным расстройством метаболизма липидов, которое создает у человека предрасположенность к преждевременному тяжелому сердечно-сосудистому заболеванию (CVD). Дефекты в по меньшей мере 3 различных генах, которые кодируют белки, вовлеченные в печеночный клиренс холестерина (LDL-C) в липопротеинах низкой плотности (LDL) могут вызывать FH. Примеры таких дефектов включают мутации при кодировании геном рецептора LDL (LDLR), который удаляет LDL-C из кровообращения, и в гене аполипопротеина (Apo) B, который является основным белком частицы LDL. В некоторых случаях FH, ген, кодирующий пропротеиновую конвертазу субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9), фермент, вовлеченный в разрушение LDLR (мутация с приобретением функции), подвергается мутации. Во всех случаях, FH характеризуется накоплением LDL-C в плазме с рождения и последующим развитием сухожильных ксантом, ксантелазм, атероматозов и CVD. FH можно классифицировать как либо гетерозиготную FH (heFH) или гомозиготную FH (hoFH) в зависимости от того, имеет ли индивидуум генетический дефект в одной (гетерозиготная) или обеих (гомозиготная) копиях вовлеченного гена.

Применяемые в настоящее время LDL-C-снижающие медицинские препараты включают статины, ингибиторы всасывания холестерина, фибраты, ниацин и секвестранты желчных кислот. Статины являются обычно назначаемой терапией для снижения LDL-C. Однако, несмотря на доступность таких липидоснижающих терапий, многим пациентам с высоким риском не удается достичь их рекомендуемого целевого уровня LDL-C (Gitt et al., 2010, *Clin Res Cardiol* 99(11): 723-733). Для пациентов, которые все еще неспособны достичь их рекомендуемого целевого уровня LDL-C, несмотря на доступную липидомодифицирующую терапию (LMT), иногда назначают механическое удаление LDL-C посредством афереза липопротеинов (например, афереза LDL). Аферез липопротеинов удаляет апопротеин B100-содержащие липопротеины из крови. Его обычно рассматривают как средство последней надежды для пациентов с прогрессирующим сердечно-сосудистым заболеванием и постоянно повышенным LDL-C.

Однако, аферез LDL является дорогостоящей процедурой, которая является инвазивной и обременительной для пациентов. Аферез, в целом, включает в себя механическое удаление крови из пациента; кровь подвергают центрифугированию, фильтрации или другим стадиям разделения вне организма для удаления нежелательных составных элементов и затем повторно вводят назад в пациента. Аферез липопротеинов резко снижает концентрацию LDL-C на 50-75%, что преобразуется в усредненное по времени снижение LDL-C, равное приблизительно 30% между процедурами афереза. Типичные процессы афереза характеризуются преходящим снижением сывороточной концентрации липопротеинов, которое сопровождается с течением времени почти линейным возвращением уровней липопротеинов до повышенного "исходного" уровня. Эта колеблющаяся картина уровней липопротеинов, которая является характерной для терапий с аферезом липопротеинов, объясняет необходимость проведения периодических терапий с аферезом, которые требуются на протяжении всего срока жизни индивидуума. Кроме того, вследствие разбросанности центров афереза во многих географических расположениях, многие пациенты должны перемещаться на значительное расстояние для проведения процедуры, которую назначают с протяженностью 3 ч и обычно предоставляют один раз в неделю - один раз в 4 недели, в зависимости от уровня

LDL-C у пациента и сердечно-сосудистого риска. В дополнение, для этой процедуры может требоваться установка шунта для частого сосудистого доступа. Аферез липопротеинов низкой плотности, как правило, хорошо переносится, но может приводить к гипотензии, гипокальциемии, аллергическим реакциям и резкому снижению уровней белков сыворотки. Документально подтверждено, что качество жизни (QoL, как определяют по опроснику) было ниже у пациентов, которым проводят аферез в дополнение к липидоснижающим лекарственным средствам в сравнении с пациентами, проходящим лечение лишь с липидоснижающими лекарственными средствами (Schiel et al., 1995, Int J Artif Organs 18:786-793). Таким образом, пациенты, которые не могут достичь целевого LDL-C, несмотря на получение оптимизированной схемы LMT, и, которым требуется аферез, чтобы снизить LDL-C, смогли бы приобрести очень значительное благоприятное воздействие от альтернативных LDL-C-снижающих терапий, которые способны снизить или устранить потребность в аферезе.

Краткое содержание сущности изобретения

Настоящее изобретение предоставляет способы лечения гиперлипидемии у пациентов, получающих терапию с аферезом липопротеинов. Терапевтические способы настоящего изобретения приводят к снижению уровня липопротеинов сыворотки, и, таким образом, служат для устранения или уменьшения потребности пациента в аферезе липопротеинов. В некоторых вариантах осуществления, частота лечения с использованием афереза, требуемого пациенту для достижения целевого уровня липопротеинов (например, целевого уровня LDL-C), снижается посредством применения терапевтических способов настоящего изобретения. В некоторых вариантах осуществления, потребность пациента в аферезе для достижения целевого уровня липопротеинов (например, целевого уровня LDL-C) устраняют посредством применения терапевтических способов настоящего изобретения.

Согласно одному аспекту, способы настоящего изобретения включают введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту, которому проводят или проводили лечение (например, в интервале последних шести месяцев) с использованием афереза липопротеинов, где введение ингибитора PCSK9 пациенту приводит к снижению уровня по меньшей мере одного липопротеина в сыворотке пациента и, следовательно, снижает или устраняет потребность в терапии с аферезом липопротеинов у пациента.

Согласно одному другому аспекту, способы настоящего изобретения включают отбор пациента с гиперхолестеринемией, которому проводят или проводили лечение с использованием афереза липопротеинов с начальной (для предварительного лечения) частотой, и введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту, снижая посредством этого уровень по меньшей мере одного липопротеина в сыворотке пациента, и, следовательно, снижая частоту афереза липопротеинов, требуемую пациенту для достижения целевого уровня липопротеинов.

Пациенты, которым проводится лечение или может проводиться лечение способами настоящего изобретения, включают, например, пациентов с гиперхолестеринемией, включая пациентов с семейной гиперхолестеринемией (FH). В некоторых вариантах осуществления, пациенты, которым проводится лечение или может проводиться лечение способами настоящего изобретения, являются пациентами, у которых диагностируют (или пациентами, иным образом известными, как имеющие) гомозиготную FH (hoFH) или гетерозиготную FH (heFH).

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения, ингибитор PCSK9 вводят пациенту в качестве терапии, дополнительной к существующей липидоснижающей терапии пациента (например, помимо исходной терапии пациента статинами).

Настоящее изобретение также предоставляет фармацевтические композиции, содержащие ингибитор PCSK9, для применения при снижении или устранении потребности в терапии с аферезом липопротеинов, или для применения при снижении частоты проведения терапии с аферезом липопротеинов для пациента.

Иллюстративные ингибиторы PCSK9, которые могут применяться в контексте способов настоящего изобретения, включают, например, антитела против PCSK9, низкомолекулярные ингибиторы PCSK9 и PCSK9-связывающие молекулы на каркасной основе.

Другие варианты осуществления настоящего изобретения станут понятными из обзора следующего подробного описания.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1 представляет диаграмму, иллюстрирующую общий дизайн исследования, описанного в примере 2 данного описания. Исследование включало 2-недельный период скрининга, 18-недельный период лечения в режиме с условиями двойной анонимности и необязательный 8-недельный период проспективного/открытого дополнительного исследования.

Фиг. 2 представляет собой поточную диаграмму, показывающую снижение показателя лечения аферезом у индивидуальных пациентов от недели 7 до недели 18 в группах пациентов, получавших лечение плацебо и алирокумаб, (ITT-популяция). Только значение LDL-C для лечения аферезом, пропущенное на месте проведения, учитывают как "аферез не проводился". Пропущенная (по любой причине) информация по лечению аферезом от недели 7 до недели 18 замещается на результат лечения аферезом "проводившегося" при визите.

Фиг. 3 показывает стандартизированный показатель афереза от недели 7 до недели 18 в группах па-

циентов, получавших лечение плацебо и алирокумаб. Показатели афереза показаны вдоль x-оси; y-ось показывает процентную долю пациентов, проявляющих соответствующий интервал показателя афереза.

Фиг. 4 показывает процент пациентов, получавших аферез в группах пациентов, получавших лечение плацебо и алирокумаб, при различных временных отметках от недели 7 до недели 18 исследования. Пациенты, показанные на этом графике, являются пациентами, которым проводили аферез еженедельно (QW) в начале исследования.

Фиг. 5 показывает процент пациентов, получавших аферез в группах пациентов, получавших лечение плацебо и алирокумаб, при различных временных отметках от недели 7 до недели 18 исследования. Пациенты, показанные на этом графике, являются пациентами, которым проводили аферез один раз в две недели (Q2W) в начале исследования.

Фиг. 6 показывает процент пациентов, получавших аферез в группах пациентов, получавших лечение плацебо и алирокумаб, при различных временных отметках от недели 7 до недели 18 исследования. Пациенты, показанные на этом графике, представляют всех пациентов, включенных в исследование.

Фиг. 7 показывает рассчитанное процентное изменение LDL-C от исходного уровня в группах пациентов, получавших лечение плацебо и алирокумаб, при различных временных отметках времени на протяжении всего исследования. Черная стрелка, помеченная "аферез изменяется" указывает отметку времени, при которой частоту афереза в перспективе определяли для индивидуальных пациентов на основании уровня LDL-C. До этой временной отметки, пациенты получали аферез при фиксированной частоте на основании установленного графика для индивидуального пациента.

Фиг. 8 показывает рассчитанные уровни LDL-C (выраженные в форме LS-среднее $[\pm SE]$ мг/дл) в группах пациентов, получавших лечение плацебо и алирокумаб, при различных отметках времени на протяжении всего исследования. Черная стрелка, помеченная "аферез изменяется" указывает отметку времени, при которой частоту афереза в перспективе определяли для индивидуальных пациентов на основании уровня LDL-C. До этой временной отметки, пациенты получали аферез при фиксированной частоте на основании установленного графика для индивидуального пациента.

Подробное описание

Перед тем, как настоящее изобретение будет описано, следует понять, что данное изобретение не ограничивается описанными конкретными способами и условиями экспериментов, так как такие способы и условия могут изменяться. Также следует понять, что терминология, используемая в настоящем описании, применяется только с целью описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена для ограничения, так как объем настоящего изобретения будет ограничен лишь прилагаемой формулой изобретения.

Если не определено иначе, все технические и научные термины, используемые в данном описании, имеют значение, обычно понятное рядовому специалисту в данной области, которому принадлежит это изобретение. Как применяют в данном описании, термин "около" при использовании со ссылкой на конкретное приведенное числовое значение, означает, что значение может изменяться от приведенного значения не более чем на 1%. Например, как применяют в данном описании, выражение "около 100" включает 99 и 101 и все значения между ними (например, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, и т.д.).

Несмотря на то, что при практической реализации настоящего изобретения могут применяться любые способы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, что описаны в настоящем документе, теперь будут описаны предпочтительные способы и материалы. Все публикации, указанные в настоящем документе, включены в него посредством ссылки полностью для описания.

Способы снижения или устранения потребности в аферезе липопротеинов.

Настоящее изобретение относится в целом к способам и композициям для снижения уровней липопротеинов у пациентов, которым проводится или проводился (например, в интервале последних шести или более месяцев) аферез липопротеинов, чтобы снизить сывороточные уровни липопротеинов (например, LDL-C и/или Lp(a)). Согласно некоторым вариантам осуществления, способы настоящего изобретения приводят к снижению уровней липопротеинов в сыровотке таких пациентов, так что потребность в аферезе липопротеинов снижается или устраняется.

Как применяют в данном описании, термин "липопротеин" означает биомолекулярную частицу, содержащую как белок, так и липид. Примеры липопротеинов включают, например, липопротеин низкой плотности (LDL), липопротеин очень низкой плотности (VLDL), липопротеин промежуточной плотности (IDL), и липопротеин (a) (Lp(a)).

Как применяют в контексте настоящего изобретения, "аферез липопротеинов" означает терапевтический процесс, включающий в себя механическое удаление крови из пациента с последующим удалением липопротеинов (например, LDL-C и/или Lp(a)) из крови пациента посредством процессов, таких как фильтрация, адсорбция, осаждение и т.п. и, окончательно, повторное введение обработанной крови обратно в кровоток пациента. Для целей настоящего раскрытия, "аферез LDL" и "аферез Lp(a)" считаются типами афереза, и, следовательно, охватываются определением более общего определения "аферез липопротеинов".

Конкретные типы афереза липопротеинов, которые включены в контекст настоящего изобретения, включают, например, двойную мембранную фильтрацию, иммуноадсорбцию, индуцированное гепари-

ном осаждение LDL, прямую адсорбцию липидов, адсорбцию на сульфате декстрана-целлюлозе (плазмы или цельной крови), систему экстракорпорального осаждения LDL гепарином (HELP), DFPP и термофильтрационный плазмаферез и гемоперфузию.

Настоящее изобретение, согласно некоторым вариантам осуществления, включает способы устранения потребности в терапии с аферезом липопротеинов. Как применяют в данном описании, у конкретного пациента "потребность в терапии с аферезом липопротеинов" определяется терапевтом, фельдшером, диагностом или другим медицинским работником на основании уровня одного или более липопротеинов (например, LDL-C и/или Lp(a)), измеренного или иным образом обнаруженного в сыворотке пациента. "Потребность в терапии с аферезом липопротеинов" у пациента может также определяться или находиться под воздействием других факторов, таких как семейный анамнез пациента, общие сведения медицинского характера, статус проводимого терапевтического воздействия, а также общепринятые или преобладающие контрольные уровни липопротеинов, принятые национальными медицинскими ассоциациями и врачебными группами. Например, в некоторых контекстах, уровень LDL-C свыше или равный около 70 мг/дл указывает на "потребность в терапии с аферезом липопротеинов" у пациента. В других контекстах, уровень LDL-C свыше или равный около 100 мг/дл указывает на "потребность в терапии с аферезом липопротеинов" у пациента. В некоторых контекстах, уровень LDL-C свыше или равный около 150, 200, 250, 300, 400 мг/дл или выше, указывает на "потребность в терапии с аферезом липопротеинов" у пациента. В еще других контекстах, независимо от того, достигается или нет конкретный процент снижения уровня LDL-C или Lp(a), относительный уровень LDL-C или Lp(a) у пациента в конкретной исходной точке ("на исходном уровне") может применяться для определения того, имеет ли пациент "потребность в терапии с аферезом липопротеинов". К примеру, снижение LDL-C или Lp(a) менее чем на 50% (например, менее 40, менее 35, менее 30, менее 25% и т.д.) от исходного уровня может означать "потребность в терапии с аферезом липопротеинов".

Настоящее изобретение, согласно некоторым вариантам осуществления, включает способы снижения частоты проведения терапии с аферезом липопротеинов у пациента. Как будет понятно рядовым специалистам в данной области, пациенту может проводиться лечение аферезом липопротеинов с конкретной частотой, чтобы достичь конкретной цели по снижению уровня липопротеинов (например, уровня LDL-C менее 100 мг/дл, уровня LDL-C менее 70 мг/дл и т.д.). Назначенную частоту определяют на основании количеств процедур лечения аферезом, требуемых пациенту во время конкретного периода времени (например, еженедельно, ежемесячно и т.д.), чтобы достичь и поддержать контрольное значение уровня липопротеина для пациента. Иллюстративные значения частоты проведения афереза липопротеинов включают, например, один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в 3 недели, один раз в четыре недели, один раз в пять недель, один раз в месяц, дважды в месяц, один раз в два месяца и т.д. Настоящее изобретение включает способы снижения частоты проведения терапии с аферезом липопротеинов у пациента посредством введения пациенту одной или более доз ингибитора PCSK9. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения, частота проведения афереза после введения одной или более доз ингибитора PCSK9 снижается по меньшей мере на 50% от частоты афереза до лечения пациента. Например, если пациент до лечения с использованием ингибитора PCSK9, проходит схему лечения с аферезом липопротеинов с частотой один раз в неделю (QW), а после лечения с использованием ингибитора PCSK9 частота афереза для пациента снижается до одного раза в 2 недели (Q2W), тогда утверждается, что пациент достиг 50% снижения частоты проведения афереза липопротеинов после лечения. В некоторых вариантах осуществления, частота афереза после введения одной или более доз ингибитора PCSK9 согласно настоящему изобретению, снижается на 75 или на 100% (т.е. после лечения устраняют потребность в аферезе липопротеинов).

Частота проведения афереза липопротеинов, в контексте настоящего изобретения, может быть выражена с позиций частоты проведения до лечения и частоты проведения после лечения. "Частота проведения до лечения" означает частоту проведения терапии с аферезом, требуемую пациенту, чтобы достичь и/или поддержать конкретный целевой уровень липопротеинов до запуска схемы лечения, включающей введение ингибитора PCSK9. "Частота проведения после лечения" означает частоту проведения терапии с аферезом, требуемую пациенту, чтобы достичь и/или поддержать конкретный целевой уровень липопротеинов после запуска схемы лечения, включающей введение ингибитора PCSK9. Частота проведения терапии с аферезом, требуемая, чтобы достичь и/или поддержать конкретный целевой уровень липопротеинов для конкретного пациента, предпочтительно определяется квалифицированным медицинским работником на основании общепринятых критериев в данной области, включающих сывороточный уровень липопротеинов, который пытаются снизить или иным образом контролировать.

Настоящее изобретение, соответственно, включает способы лечения, включающие в себя введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту, посредством чего частота проведения афереза липопротеинов пациенту после лечения становится меньше частоты проведения афереза липопротеинов пациенту до лечения. Например, настоящее изобретение включает терапевтические способы, включающие введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту, который получает или получал терапию с аферезом липопротеинов с частотой проведения до лечения равной, например, одному разу в неделю, где, после получения одной или более доз ингибитора PCSK9, частота проведения афереза липопротеи-

нов, требуемая пациенту, чтобы достичь и/или поддерживать конкретный целевой уровень липопротеинов (т.е. частота проведения после лечения) составляет, например, один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в четыре недели или менее часто. В некоторых случаях, потребность в аферезе липопротеинов, требуемая пациенту чтобы достичь и/или поддерживать конкретный целевой уровень липопротеинов, устраняется полностью после введения одной или более доз ингибитора PCSK9.

Согласно некоторым вариантам осуществления, настоящее изобретение включает в себя способы снижения или устранения потребности в терапии с аферезом липопротеинов, где способы включают отбор пациента с гиперлипидемией (например, гиперхолестеринемией), который получал лечение с использованием афереза липопротеинов в интервале последнего месяца, последних 2 месяцев, последних 3 месяцев, последних 4 месяцев, последних 5 месяцев, последних 6 месяцев или в течение более длительного периода, и введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту. Способы согласно этому аспекту изобретения приводят к снижению уровня по меньшей мере одного липопротеина в сыворотке пациента, и следовательно обеспечивают снижение или устранение потребности в терапии с аферезом липопротеинов у пациента. Например, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, после введения одной или более доз ингибитора PCSK9, сывороточный уровень LDL-C пациента снижается менее заданного уровня (например, менее 100 или менее 70 мг/дл), таким образом, что частота проведения терапии с аферезом липопротеинов после лечения, требуемая пациенту, чтобы достичь и/или поддерживать конкретный целевой уровень липопротеинов снижается, или делается вывод, что аферез липопротеинов больше не требуется.

В некоторых вариантах осуществления, показатель (или частоту) проведения афереза выражают в виде нормализованного показателя афереза, требуемого пациенту, чтобы достичь и/или поддерживать конкретный целевой уровень липопротеинов. Как применяют в данном описании, нормализованный показатель афереза для конкретного пациента определяют как число действительных процедур лечения аферезом, получаемых пациентом в течение заданного периода времени после инициации схемы лечения антителом против PCSK9, разделенное на число процедур лечения аферезом, получаемых пациентом в течение эквивалентного периода времени перед инициацией схемы лечения антителом против PCSK9.

Например, если до инициации схемы лечения, включающей введение антитела против PCSK9, пациент получал 8 процедур лечения аферезом в течение 8-недельного периода (например, один раз в неделю), а после инициации схемы лечения антителом против PCSK9 пациент получал 2 сеанса лечения аферезом в течение 8-недельного периода (например, один раз в четыре недели), тогда нормализованный показатель афереза пациент составляет $2/8=0,25$. Настоящее изобретение включает способы, посредством которых нормализованный показатель афереза для пациента после введения ингибитора PCSK9 составляет, например, менее 0,9, менее 0,8, менее 0,7, менее 0,6, менее 0,5, менее 0,4, менее 0,3, менее 0,2 или менее 0,1.

Согласно некоторым вариантам осуществления, пациент, которому может проводиться лечение способами настоящего изобретения, имеет гиперхолестеринемию (например, сывороточную концентрацию LDL-C свыше или равную 70 мг/дл, или сывороточную концентрацию LDL-C свыше или равную 100 мг/дл). В некоторых вариантах осуществления, гиперхолестеринемия у пациента недостаточно контролируется посредством терапии статинами. Например, настоящее изобретение включает способы снижения или устранения частоты проведения терапии с аферезом липопротеинов у пациента, который имеет гиперхолестеринемию, которая недостаточно контролируется суточной дозой статина, выбранного из группы, состоящей из аторвастатина (включая аторвастатин+эзетимиб), розувастатина, церивастатина, питавастатина, флувастатина, ловастатина, симвастатина (включая симвастатин+эзетимиб), правастатина и их комбинаций. Настоящее изобретение также включает способы снижения или устранения частоты проведения терапии с аферезом липопротеинов у пациента, который имеет гиперхолестеринемию и который проявляет непереносимость статинов или который иным образом испытывает неблагоприятные или нежелательные реакции (реакции) на терапию статинами (например, боль в скелетных мышцах, ломоту, слабость или спазмы (например, миалгию, миопатию, рабдомиолиз, и т.д.)).

Способы лечения липидных повреждений.

Настоящее изобретение дополнительно относится к способам и композициям для лечения, купирования или разрешения физических проявлений гиперхолестеринемии. Согласно некоторым вариантам осуществления, настоящее изобретение предоставляет способы лечения пациента, имеющего липидное повреждение, ассоциированное с гиперхолестеринемией. Например, настоящее изобретение предоставляет способ лечения пациента, имеющего одну или более ксантелазм. Способы и композиции согласно этому аспекту изобретения включают введение одной или более доз ингибитора PCSK9 нуждающемуся в этом пациенту, где липидные повреждения, которые существовали у пациента до лечения с использованием ингибитора PCSK9, уменьшаются, разрешаются или устраняются после введения одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту. Согласно некоторым вариантам осуществления, настоящее изобретение включает в себя способы лечения пациента, имеющего липидное повреждение, ассоциированное с гиперхолестеринемией, где способы включают отбор пациента с липидным повреждением (например, ксантелазмой), и введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту.

Отбор пациентов.

Настоящее изобретение включает способы и композицию, применимую для лечения пациентов, которым проводится или недавно проводился аферез липопротеинов (например, в интервале последних шести месяцев, в интервале последних 12 недель, в интервале последних 8 недель, в интервале последних 6 недель, в интервале последних 4 недель, в интервале последних 2 недель и т.д.). Пациенты, которым может проводиться лечение способами настоящего изобретения, могут также проявлять один или более дополнительных критериев отбора. Например, пациент может быть отобран для лечения с использованием способов настоящего изобретения, если пациента диагностируют или идентифицируют, как имеющего риск развития состояния гиперхолестеринемии, такой как, например, гетерозиготная семейная гиперхолестеринемия (heFH), гомозиготная семейная гиперхолестеринемия (hoFH), аутосомно-доминантная гиперхолестеринемия (ADH, например ADH, ассоциированная с одной или более мутаций с приобретением функции в гене PCSK9), аутосомно-рецессивная гиперхолестеринемия (ARH, например ARH, ассоциированная с мутациями LDLRAP1), а также случаи гиперхолестеринемии, которые отличаются от семейной гиперхолестеринемии (nonFH). Диагноз семейная гиперхолестеринемия (например, heFH или hoFH) может быть поставлен на основании генотипирования и/или клинических критериев. Для пациентов, которых не генотируют, клинический диагноз может быть основан либо на критериях Саймона Брума с критериями для определенной FH, или критериях WHO/Голландской Липидной Сети при балльной оценке >8 пунктов.

Согласно некоторым вариантам осуществления, пациент может быть отобран на основании того, что он имеет медицинскую историю коронарной болезни сердца (CHD). Как применяют в данном описании "история CHD" (или "документально подтвержденная история CHD") включает одно или более из: (i) острого инфаркта миокарда (MI); (ii) бессимптомного MI; (iii) нестабильной стенокардии; (iv) процедуры коронарной реваскуляризации (например, чрескожное коронарное вмешательство [PCI] или аорто-коронарное шунтирование [CABG]); и/или (v) клинически значимой CHD, диагностированной посредством инвазивного или неинвазивного тестирования (такого как коронароангиография, нагрузочное испытание с использованием беговой дорожки, стресс-эхокардиография или радионуклидная визуализация).

Согласно некоторым вариантам осуществления, пациент может быть отобран на основании того, что он имеет сердечнососудистое заболевание, являющееся некоронарной болезнью сердца ("не-CHD CVD"). Как применяют в данном описании, "не-CHD CVD" включает одно или более из: (i) документально подтвержденного предшествующего ишемического инсульта с очаговым ишемическим неврологическим дефицитом, который продолжался более 24 ч, рассматриваемого, как имеющего атеротромботическое происхождение; (ii) заболевания периферических артерий; (iii) аневризмы брюшной аорты; (iv) атеросклеротического стеноза почечной артерии; и/или (v) заболевания сонной артерии (транзиторные ишемические приступы или >50% обструкции сонной артерии).

Согласно некоторым вариантам осуществления, пациент может быть отобран на основании того, что он имеет один или более дополнительных факторов риска, таких как, например, (i) документально подтвержденная умеренная хроническая болезнь почек (CKD) определяемая по $30 \leq eGFR < 60$ мл/мин/1,73 м² в течение 3 месяцев или более; (ii) сахарный диабет типа 1 или типа 2 с повреждением или без повреждения органа-мишени (например, ретинопатией, нефропатией, микроальбуминурией); (iii) а подсчитанный БАЛЛ риска 10-летней фатальной CVD $\geq 5\%$ (ESC/EAS Guidelines for management of dyslipidemias, Conroy et al., 2003, Eur. Heart J. 24:987-1003).

Согласно некоторым вариантам осуществления, пациент может быть отобран на основании того, что он имеет одно или более дополнительных факторов риска, выбранных из группы, состоящей из возраста (например, старше 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или 80 лет), расы, национальной принадлежности, пола (мужского или женского), склонности к физическим упражнениям (например, постоянно выполняющий физические упражнения, не выполняющий физические упражнения), других ранее существовавших медицинских состояний (например, диабет типа II, высокое артериальное давление и т.д.), и существующего статуса медикаментозного лечения (например, принимающий в рассматриваемое время бета-блокаторы, ниацин, эзетимиб, фибраты, омега-3 жирные кислоты, секвестранты желчных кислот и т.д.). Согласно настоящему изобретению, пациенты могут быть отобраны на основании комбинации одного или более из вышеприведенных критериев отбора или терапевтических характеристик. Например, согласно некоторым вариантам осуществления, пациент, подходит для лечения с использованием способов настоящего изобретения, в дополнение к проведению или недавнему проведению (например, в интервале последних шести месяцев, афереза липопротеинов, может дополнительно быть отобран на основании того, что он имеет heFH или не-FH в комбинации с: (i) историей с документированной CHD, (ii) не-CHD CVD и/или (iii) сахарный диабет без повреждения целевого органа; такие пациенты также могут быть отобраны на основании того, что они имеют сывороточную концентрацию LDL-C свыше или равную 70 мг/дл.

Согласно некоторым другим вариантам осуществления, пациент, подходящий для лечения с использованием способов настоящего изобретения, в дополнение к тому, что он имеет гиперхолестеринемия, которая несоответствующим образом контролируется ежедневной умеренной дозой по терапевти-

ческой схеме приема статинов, может дополнительно быть отобран на основании того, что он имеет heFH или he-FH без CHD, или he-CHD CVD, но имеет либо (i) подсчитанный БАЛЛ риска 10-летней фатальной CVD $\geq 5\%$; или (ii) сахарный диабет без повреждения целевого органа; такие пациенты могут также быть отобраны на основании того, что они имеют сывороточную концентрацию LDL-C, выше или равную 100 мг/дл.

Введение ингибитора PCSK9 в качестве дополнительной терапии.

Настоящее изобретение включает способы лечения, посредством которых пациенту, которому проводят или недавно проводили аферез липопротеинов, вводят ингибитор PCSK9 в соответствии с конкретными количеством и частотой дозирования, и, где ингибитор PCSK9 вводят в качестве дополнительной к ранее существующей у пациента липидоснижающей терапии (в случае применимости), такой как дополнительной к ранее существующей у пациента суточной терапевтической схеме приема статинов.

Например, способы настоящего изобретения включают дополнительные схемы лечения, где ингибитор PCSK9 вводят в качестве дополнительной терапии к одной и той же стабильной суточной терапевтической схеме приема статинов (т.е. с одинаковым дозируемым количеством статина), которой пациент следовал до приема ингибитора PCSK9. В других вариантах осуществления, ингибитор PCSK9 вводят в качестве дополнительной терапии к терапевтической схеме приема статинов, включающей статин в количестве, которое составляет больше или меньше дозы статина, которой пациент следовал до приема ингибитора PCSK9. Например, после начала применения схемы лечения, включающей ингибитор PCSK9, вводимый при конкретных частоте и количестве дозирования, суточная доза статина, вводимого или назначенного пациенту, может (a) оставаться такой же, (b) увеличиваться или (c) уменьшаться (например, при увеличении дозы или уменьшении дозы) в сравнении с суточной дозой статина, которую пациент принимал перед началом применения схемы лечения ингибитором PCSK9, в зависимости от терапевтических потребностей пациента.

Терапевтическая эффективность.

Способы настоящего изобретения приводят к снижению сывороточных уровней одного или более липидных компонентов, выбранных из группы, состоящей из LDL-C, ApoB100, не-HDL-C, общего холестерина, VLDL-C, триглицеридов, Lp(a) и ремнантного холестерина. Липопротеин-снижающие эффекты режима лечения настоящего изобретения, следовательно, приводят к сниженной частоте проведения, или устраненной потребности в аферезе липопротеинов, чтобы достичь целевого уровня липопротеинов у пациента. Например, согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения, введение фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9, пациенту, которому проводится или недавно проводился аферез липопротеинов, будет приводить к среднему процентному снижению сывороточного холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) от исходного уровня, равному по меньшей мере около 25, 30, 40, 50, 60% или более; среднему процентному снижению ApoB100 от исходного уровня, равному по меньшей мере около 25, 30, 40, 50, 60% или более; среднему процентному снижению не-HDL-C от исходного уровня, равному по меньшей мере около 25, 30, 40, 50, 60% или более; среднему процентному снижению общего холестерина от исходного уровня, равному по меньшей мере около 10, 15, 20, 25, 30, 35% или более; среднему процентному снижению VLDL-C от исходного уровня, равному по меньшей мере около 5, 10, 15, 20, 25, 30% или более; среднему процентному снижению триглицеридов от исходного уровня, равному по меньшей мере около 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35% или более; и/или среднему процентному снижению Lp(a) от исходного уровня, равному по меньшей мере около 5, 10, 15, 20, 25% или более.

Настоящее изобретение включает способы лечения пациента с гиперхолестеринемией, способы, включающие введение множества доз антитела против PCSK9 пациенту при дозируемом количестве от около 75 до 150 мг на дозу, и частоте дозирования от около одного раза в две недели, (или по схеме дозирования в соответствии со схемой дозирования с повышением дозы, как описано где-либо в другом месте данного документа), где пациенту проводят, или недавно проводили аферез липопротеинов, и, где, через около 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 или более недель лечения с использованием антитела против PCSK9, пациент проявляет снижение уровня LDL-C от исходного уровня, равное по меньшей мере 50%, и, что, следовательно, приводит к сниженной частоте проведения или устранению потребности в аферезе липопротеинов у пациента. В некоторых вариантах осуществления, после одной или более недель лечения с использованием антитела против PCSK9, пациент проявляет снижение уровня LDL-C от исходного уровня, равное около 55, 60, 70% или более.

Ингибиторы PCSK9.

Способы настоящего изобретения включают введение пациенту терапевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9. Как применяют в данном описании, "ингибитор PCSK9" представляет собой любое средство, которое связывается или взаимодействует с человеческим PCSK9 и ингибирует нормальную биологическую функцию PCSK9 *in vitro* или *in vivo*. Неограничивающие примеры категорий ингибиторов PCSK9 включают низкомолекулярные антагонисты PCSK9, ингибиторы экспрессии или активности PCSK9 на основе нуклеиновой кислоты (например, миРНК или антисмысловой цепи), молекулы на пептидной основе, которые специфически взаимодействуют с PCSK9 (например, пептидела), молекулы рецепторов, которые специфически взаимодействуют с PCSK9, белки, содержащие ли-

ганд-связывающую часть рецептора LDL, молекулы с PCSK9-связывающим каркасом (например, DARPin, белки с повтором HEAT, белки с повтором ARM, белки с тетраатрикопептидным повтором, каркасные конструкции на основе фибронектина, и другие каркасы на основе природных белков с повторами, и т.д. (см., например, Voersma and Pluckthun, 2011, *Curr. Opin. Biotechnol.* 22:849-857, и цитируемые в ней ссылки]) и против-PCSK9 аптамеры или их части. Согласно некоторым вариантам осуществления, ингибиторы PCSK9, которые могут применяться в контексте настоящего изобретения, представляют собой антитела против PCSK9 или антигенсвязывающие фрагменты антител, которые специфически связываются с человеческой PCSK9.

Термин "пропротеиновая конвертаза субтилизин/кексин типа 9" или "человеческая PCSK9" или "hPCSK9", как применяют в данном описании, относится к PCSK9, имеющей последовательность нуклеиновой кислоты, показанную в SEQ ID NO:197, и аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:198, или ее биологически активному фрагменту.

Термин "антитело", как применяют в данном описании, предназначен для обозначения молекул иммуноглобулина, содержащих четыре полипептидных цепи, две тяжелых (H) цепи и две легких (L) цепи, соединенные между собой дисульфидными связями, а также их мультимеров (например, IgM). Каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (сокращенно обозначаемую в данном описании как HCVR или V_H) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит три домена, C_{H1} , C_{H2} и C_{H3} . Каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (сокращенно обозначаемую в данном описании как LCVR или V_L) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один домен (C_{L1}). Области V_H и V_L могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности, называемые областями, определяющими комплементарность (CDR), перемежающиеся с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). Каждая V_H и V_L составлена из трех CDR и четырех FR, расположенных в направлении от amino-конца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В различных вариантах осуществления изобретения, FR антитела против PCSK9 (или его антигенсвязывающей части) может быть идентичным с человеческими последовательностями эмбриональной линии или может быть природным образом или искусственно модифицировано.

Аминокислотная консенсусная последовательность может быть определена на основе параллельного анализа двух или более CDR.

Термин "антитело", как применяют в данном описании, также включает антигенсвязывающие фрагменты молекул полного антитела. Термины "антигенсвязывающая часть" антитела, "антигенсвязывающий фрагмент" антитела, и т.п., как применяют в данном описании, включают любой природный, получаемый ферментативно, синтетический или генетически сконструированный полипептид или гликопротеин, который специфически связывается с антигеном с образованием комплекса. Антигенсвязывающие фрагменты антитела могут быть получены, например, из молекул полного антитела, используя любые подходящие стандартные методы, такие как протеолитическое расщепление или рекомбинантные методы генетической инженерии, включающие манипуляции с ДНК и экспрессию ДНК, кодирующей переменные и необязательно константные домены антитела. Такая ДНК является известной и/или легкодоступной из, например, источников коммерческой информации, библиотек ДНК (включающих, например, библиотеки фаг-антитела), или может быть синтезирована. ДНК можно секвенировать и проводить с ней манипуляции химически или используя методы молекулярной биологии, например, для расположения одного или более переменных и/или константных доменов в подходящей конфигурации, или для введения кодонов, создания остатков цистеина, модификации, добавления или делеции аминокислот и т.д.

Неограничивающие примеры антигенсвязывающих фрагментов включают: (i) Fab-фрагменты; (ii) $F(ab')_2$ -фрагменты; (iii) Fd-фрагменты; (iv) Fv-фрагменты; (v) одноцепочечные молекулы Fv (scFv); (vi) dAb-фрагменты; и (vii) минимальные единицы распознавания, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гипервариабельную область антитела (например, изолированная область, определяющая комплементарность (CDR), такая как пептид CDR3), или конформационно затрудненный пептид FR3-CDR3-FR4. Другие сконструированные молекулы, такие как домен-специфические антитела, однодоменные антитела, антитела с удаленным доменом, химерные антитела, CDR-привитые антитела, диатела, триатела, тетраатела, минитела, нанотела (например моновалентные нанотела, бивалентные нанотела, и т.д.), иммунофармацевтические средства на основе модульного белка малого размера (SMIP), и акульи переменные IgNAR-домены, также охватываются выражением "антигенсвязывающий фрагмент" как применяют в данном описании.

Антигенсвязывающий фрагмент антитела будет обычно содержать по меньшей мере один переменный домен. Переменный домен может иметь любой размер или аминокислотный состав и будет, как правило, содержать по меньшей мере одну CDR, которая примыкает или находится в рамке с одной или более каркасных последовательностей. В антигенсвязывающих фрагментах, имеющих домен V_H , ассоциированный с доменом V_L , домены V_H и V_L могут быть расположены один относительно другого в любой подходящей расстановке. Например, переменная область может быть димерной и содержать димеры V_H - V_H , V_H - V_L или V_L - V_L . Альтернативно, антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать

мономерный домен V_H или V_L .

В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать по меньшей мере один переменный домен, ковалентно связанный с по меньшей мере одним константным доменом. Неограничивающие, иллюстративные конфигурации переменных и константных доменов, которые могут быть обнаружены в антигенсвязывающем фрагменте антитела настоящего изобретения включают: (i) V_H-C_H1 ; (ii) V_H-C_H2 ; (iii) V_H-C_H3 ; (iv) $V_H-C_H1-C_H2$; (v) $V_H-C_H1-C_H2-C_H3$; (vi) $V_H-C_H2-C_H3$; (vii) V_H-C_L ; (viii) V_L-C_H1 ; (ix) V_L-C_H2 ; (x) V_L-C_H3 ; (xi) $V_L-C_H1-C_H2$; (xii) $V_L-C_H1-C_H2-C_H3$; (xiii) $V_L-C_H2-C_H3$; и (xiv) V_L-C_L . В любой конфигурации переменных и константных доменов, включающей любую из иллюстративных конфигураций, приведенных выше, переменные и константные домены могут быть либо непосредственно связаны друг с другом или могут быть связаны посредством полной или частичной шарнирной или линкерной области. Шарнирная область может состоять из по меньшей мере 2 (например, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или более) аминокислот, что приводит к гибкому или полугибкому связыванию между смежными переменными и/или константными доменами в одиночной полипептидной молекуле. Кроме того, антигенсвязывающий фрагмент антитела настоящего изобретения может содержать гомодимер или гетеродимер (или другой мультимер) с любой из конфигураций переменного и константного домена, приведенных выше, в нековалентной ассоциации друг с другом и/или с одним или более мономерных доменов V_H или V_L (например, посредством дисульфидных связи (связей)).

По аналогии с молекулами полного антитела, антигенсвязывающие фрагменты могут быть моноспецифическими или мультиспецифическими (например, биспецифическими).

Мультиспецифический антигенсвязывающий фрагмент антитела будет типовым образом содержать по меньшей мере два различных переменных домена, где каждый переменный домен способен специфически связываться с отдельным антигеном или с различными эпитопами на одном и том же антигене. Любой формат мультиспецифического антитела, включая форматы иллюстративного биспецифического антитела, раскрытые в настоящем описании, могут быть адаптированы для применения в контексте антигенсвязывающего фрагмента антитела настоящего изобретения, с использованием установленных методов, доступных в данной области техники.

Константная область антитела является важной для способности антитела фиксировать комплемент и опосредовать клеточнозависимую цитотоксичность. Таким образом, изотип антитела может быть выбран на основании того, желательно ли для антитела опосредовать цитотоксичность.

Термин "человеческое антитело", как применяют в данном описании, предназначен для включения антител, имеющих переменные и константные области, производные от последовательностей человеческого эмбрионального иммуноглобулина. Человеческие антитела согласно изобретению могут, тем не менее, включать аминокислотные остатки, не кодируемые человеческими последовательностями иммуноглобулинов эмбриональной линии (например, мутации, введенные посредством случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или посредством соматической мутации *in vivo*), например, в CDR и, в частности, CDR3. Однако, термин "человеческое антитело", как применяют в данном описании, не предназначен для включения антител, в которых последовательности CDR являются производными от эмбриональной линии одного другого вида млекопитающего, такого как мышь, и были привиты на человеческие каркасные последовательности.

Термин "рекомбинантное человеческое антитело", как применяют в данном описании, предназначено для включения всех человеческих антител, которые получают, экспрессируют, создают или изолируют рекомбинантными средствами, таких как антитела, экспрессируемые с использованием вектора рекомбинантной экспрессии, трансфицированного в клетку-хозяина (дополнительно описанную ниже), антитела, изолированные из комбинаторной библиотеки рекомбинантных человеческих антител (дополнительно описанной ниже), антитела, изолированные из животного (например, мыши), которые являются трансгенными для генов человеческих иммуноглобулинов (см., например, Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295), или антитела, полученные, экспрессированные, созданные или изолированные любыми другими средствами, которые включают сплайсинг последовательностей генов человеческих иммуноглобулинов в другие последовательности ДНК. Такие рекомбинантные человеческие антитела имеют переменные и константные области, производные от последовательностей иммуноглобулинов человеческой эмбриональной линии. В некоторых вариантах осуществления, однако, такие рекомбинантные человеческие антитела подвергают мутагенезу *in vitro* (или, когда используют животное, трансгенное для последовательностей человеческих Ig, соматическому мутагенезу *in vivo*) и, таким образом, аминокислотные последовательности областей V_H и V_L рекомбинантного антитела представляют собой последовательности, которые при том, что они получены из человеческих эмбриональных последовательностей V_H и V_L и относятся к ним, не могут естественным образом существовать в эмбриональном наборе человеческих антител *in vivo*.

Человеческие антитела могут существовать в двух формах, которые ассоциированы с гетерогенностью шарнира. В одной форме, молекула иммуноглобулина содержит стабильную конструкцию из четырех цепей с молекулярной массой приблизительно 150-160 кДа, в которой димеры удерживаются вместе посредством межцепочечной дисульфидной связи тяжелых цепей. Во второй форме, димеры не связаны через межцепочечные дисульфидные связи, и образуется молекула с массой около 75-80 кДа, составлен-

ная из ковалентно связанных легкой и тяжелой цепей (половинное антитело). Эти формы крайне трудно разделить, даже после аффинной очистки.

Частота появления второй формы в различных изоформах интактных IgG обусловлена, но не только ими, структурными различиями, ассоциированными с шарнирной областью изоформы антитела. Одиночная аминокислотная замена в шарнирной области шарнира человеческого IgG4 может значительно снизить появление второй формы (Angal et al. (1993) *Molecular Immunology* 30:105) до уровней, обычно наблюдаемых при использовании шарнира человеческого IgG1. Настоящее изобретение охватывает антитела, имеющие одну или более мутаций в шарнире, области C_H2 или C_H3, которые могут быть желательными, например, при получении, чтобы улучшить выход желательной формы антитела.

"Изолированное антитело", как применяют в данном описании, означает антитело, которое было идентифицировано и отделено и/или извлечено из по меньшей мере одного компонента его природного окружения. Например, антитело, которое было отделено или удалено из по меньшей мере одного компонента организма, или из ткани или клетки, в которых антитело естественным образом существует или естественным образом продуцируется, является "изолированным антителом" для целей настоящего изобретения. Изолированное антитело также включает антитело *in situ* в рекомбинантной клетке. Изолированные антитела представляют собой антитела, которые подвергали по меньшей мере одной стадии очистки или выделения. Согласно некоторым вариантам осуществления, изолированное антитело может не содержать по существу другого клеточного материала и/или химикатов.

Термин "специфически связывается" или т.п., означает, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент образует комплекс с антигеном, который является относительно устойчивым в физиологических условиях. Методы определения того, связывается ли антитело специфически с антигеном, хорошо известны в данной области и включают, например, равновесный диализ, поверхностный плазмонный резонанс, и т.п. Например, антитело, которое "специфически связывается" с PCSK9, как применяют в контексте настоящего изобретения, включает антитела, которые связываются с PCSK9 или ее частью с K_D, равной менее около 1000, менее около 500, менее около 300, менее около 200, менее около 100, менее около 90, менее около 80, менее около 70, менее около 60, менее около 50, менее около 40, менее около 30, менее около 20, менее около 10, менее около 5, менее около 4, менее около 3, менее около 2, менее около 1 или менее около 0,5 нМ, измеренной при анализе методом поверхностного плазмонного резонанса. Изолированное антитело, которые специфически связывается с человеческой PCSK9, однако, обладает перекрестной реактивностью к другим антигенам, таким как молекулы PCSK9 из другого (нечеловеческого) вида.

Антитела против PCSK9, применимые для способов настоящего изобретения, могут содержать одну или более аминокислотных замен, вставок и/или делеций в каркасных областях и/или CDR областях переменных доменов тяжелой и легкой цепи в сравнении с соответствующими последовательностями эмбриональной линии, из которых антитела были получены. Такие мутации могут быть легко подтверждены посредством сравнения аминокислотных последовательностей, раскрытых в данном описании, с последовательностями эмбриональной линии, доступных из, например, общедоступных баз данных последовательностей антител. Настоящее изобретение включает способы, включающие в себя применение антител и их антигенсвязывающих фрагментов, которые являются производными любой из аминокислотных последовательностей, раскрытых в данном описании, где одна или более аминокислот в одной или нескольких каркасных и/или CDR-областях подвергаются мутации по соответствующим остатку (остаткам) последовательности эмбриональной линии, производной из которой является антитело, или по соответствующим остатку (остаткам) другой человеческой последовательности эмбриональной линии, или консервативной аминокислотной замене соответствующих остатка (остатков) эмбриональной линии (такие изменения последовательности в данном описании называют обобщенно "мутации эмбриональной линии"). Рядовой специалист в данной области, начиная с последовательностей переменной области тяжелой и легкой цепи, раскрытых в данном описании, сможет легко получить многочисленные антитела и антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат одну или несколько индивидуальных мутаций эмбриональной линии, или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления, все остатки каркаса и/или CDR в доменах V_H и/или V_L подвергаются обратной мутации до остатков, обнаруженных в исходной последовательности эмбриональной линии, из которой было получено антитело. В других вариантах осуществления, только некоторые остатки подвергаются обратной мутации в исходную последовательность эмбриональной линии, например только мутировавшие остатки, обнаруженные среди первых 8 аминокислот FR1 или среди последних 8 аминокислот FR4, или лишь мутировавшие остатки, обнаруженные в CDR1, CDR2 или CDR3. В других вариантах осуществления, один или несколько остатков каркаса и/или CDR подвергаются мутации до соответствующих остатка (остатков) из отличающейся последовательности эмбриональной линии (т.е. последовательности эмбриональной линии, которая отличается от последовательности эмбриональной линии, из которой антитело было первоначально получено). Кроме того, антитела настоящего изобретения могут содержать любую комбинацию из двух или более мутаций эмбриональной линии в каркасных и/или CDR-областях, например, где некоторые индивидуальные остатки подвергаются мутации до соответствующего остатка конкретной последовательности эмбриональной линии, в то время как некоторые другие остатки, которые отличаются от исходной

последовательности эмбриональной линии, сохраняются или подвергаются мутации до соответствующего остатка из отличающейся последовательности эмбриональной линии. Сразу после получения, антитела и антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат одну или более мутаций эмбриональной линии, могут быть легко протестированы по одному или нескольким желательным свойствам, таким, как улучшенная специфичность связывания, увеличенная аффинность связывания, улучшенные или усиленные антагонистические или агонистические биологические свойства (в зависимости от ситуации), пониженная иммуногенность и т.д. Применение антител и антигенсвязывающих фрагментов, полученных этим общим способом, охватывается настоящим изобретением.

Настоящее изобретение также включает способы, включающие в себя применение антител против PCSK9, содержащих варианты любых аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR, и/или CDR, раскрытых в данном описании, имеющие одну или несколько консервативных замен. Например, настоящее изобретение включает применение антител против PCSK9, имеющих аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR, например, с 10 или менее, 8 или менее, 6 или менее, 4 или менее, и т.д. консервативными аминокислотными заменами относительно любых аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR, и/или CDR, раскрытых в данном описании.

Термин "поверхностный плазмонный резонанс", как применяют в данном описании, относится к оптическому явлению, которое позволяет проводить анализ взаимодействий в режиме реального времени посредством обнаружения изменений концентраций белка в матрице биосенсора, например, с использованием системы VIAcore™ (подразделение Biacore Life Sciences GE Healthcare, Piscataway, NJ).

Термин "K_D", как применяют в данном описании, предназначен для обозначения равновесной константы диссоциации для конкретного взаимодействия антитело-антиген.

Термин "эпитоп" относится к антигенной детерминанте, которая взаимодействует со специфичным участком связывания антигена в варибельной области молекулы антитела, известной как паратоп. Единственный антиген может иметь свыше одного эпитопа. Таким образом, различные антитела могут связываться с различными областями на антигене и могут иметь различные биологические эффекты. Эпитопы могут быть либо конформационными или линейными. Конформационный эпитоп производится пространственно сближенными аминокислотами из различных сегментов линейной цепи полипептида. Линейный эпитоп является эпитопом, производимым соседними аминокислотными остатками в полипептидной цепи. При некоторых обстоятельствах, эпитоп может включать фрагменты сахаридов, фосфорильные группы или сульфонильные группы на антигене.

Согласно некоторым вариантам осуществления, антитело против PCSK9, применяемое в способах настоящего изобретения, является антителом с характеристиками pH-зависимого связывания. Как применяют в данном описании, выражение "pH-зависимое связывание" означает, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент проявляют "сниженное связывание с PCSK9 при кислотном pH в сравнении с нейтральным pH" (для целей настоящего раскрытия, оба выражения могут применяться взаимозаменяемо). Например, антитела "с характеристиками pH-зависимого связывания" включают антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются с PCSK9 с более высокой аффинностью при нейтральном pH, чем при кислотном pH. В некоторых вариантах осуществления, антитела и антигенсвязывающие фрагменты настоящего изобретения связываются с PCSK9 с по меньшей мере в 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 или более раз более высокой аффинностью при нейтральном pH, чем при кислотном pH.

Согласно этому аспекту изобретения, антитела против PCSK9 с характеристиками pH-зависимого связывания могут обладать одной или более аминокислотными вариациями относительно исходного антитела против PCSK9. Например, антитело против PCSK9 с характеристиками pH-зависимого связывания может содержать одну или более гистидиновых замен или вставок, например, в одной или нескольких CDR исходного антитела против PCSK9. Таким образом, согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения, предоставлены способы, включающие введение антитела против PCSK9, которое содержит аминокислотные последовательности CDR (например, CDR тяжелой и легкой цепи), которые являются идентичными с аминокислотными последовательностями CDR исходного антитела против PCSK9, за исключением замены одной или более аминокислот в одной или более CDR исходного антитела на остаток гистидина. Антитела против PCSK9 с pH-зависимым связыванием могут обладать, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или более гистидиновыми заменами, либо в единственной CDR исходного антитела или распределенными по множеству (например, 2, 3, 4, 5, или 6) CDR исходного антитела против PCSK9. Например, настоящее изобретение включает применение антител против PCSK9 с pH-зависимым связыванием, содержащих одну или более гистидиновых замен в HCDR1, одну или более гистидиновых замен в HCDR2, одну или более гистидиновых замен в HCDR3, одну или более гистидиновых замен в LCDR1, одну или более гистидиновых замен в LCDR2 и/или одну или более гистидиновых замен в LCDR3 исходного антитела против PCSK9.

Как применяют в данном описании, выражение "кислотный pH" означает pH, равный 6,0 или менее (например, менее около 6,0, менее около 5,5, менее около 5,0, и т.д.). Выражение "кислотный pH" включает значения pH, равные около 6,0, 5,95, 5,90, 5,85, 5,8, 5,75, 5,7, 5,65, 5,6, 5,55, 5,5, 5,45, 5,4, 5,35, 5,3, 5,25, 5,2, 5,15, 5,1, 5,05, 5,0 или менее. Как применяют в данном описании, выражение "нейтральный pH"

означает рН от около 7,0 до около 7,4. Выражение "нейтральный рН" включает значения рН, равные около 7,0, 7,05, 7,1, 7,15, 7,2, 7,25, 7,3, 7,35 и 7,4.

Неограничивающие примеры антител против PCSK9, которые могут применяться в контексте настоящего изобретения, включают, например, алирокумаб, эволокумаб, бокоцизумаб, лоделцизумаб, ралпанцизумаб или антигенсвязывающие части любого из приведенных выше антител.

Получение человеческих антител.

Способы генерации человеческих антител у трансгенных мышей известны в данной области. Любые такие известные способы могут применяться в контексте настоящего изобретения для получения человеческих антител, которые специфически связываются с человеческой PCSK9.

Используя технологию VELOCIMMUNE™ (см., например, US 6,596,541, Regeneron Pharmaceuticals) или любой другой известный способ генерации моноклональных антител, сначала изолируют химерные антитела к PCSK9 с высокой аффинностью, имеющие человеческую переменную область и мышиную константную область. Технология VELOCIMMUNE® включает в себя генерацию трансгенной мыши, имеющей геном, содержащий человеческие переменные области тяжелой и легкой цепи, функционально связанные с эндогенными мышинами локусами константной области, таким образом, что мышь продуцирует антитело, содержащее человеческую переменную область и мышиную константную область в ответ на антигенную стимуляцию. ДНК, кодирующую переменные области тяжелых и легких цепей антитела, изолируют и функционально связывают с ДНК, кодирующей человеческие константные области тяжелых и легких цепей. ДНК затем экспрессируют в клетке, способной экспрессировать полностью человеческое антитело.

Обычно, мышь VELOCIMMUNE® сенсibiliзируют антигеном, представляющим интерес, и из мышей извлекают лимфатические клетки (такие как В-клетки), которые экспрессируют антитела. Лимфатические клетки могут быть гибридизованы с клеточной линией миеломы, чтобы получить immortalized клеточные линии гибридомы, и такие клеточные линии гибридомы подвергают скринингу и отбирают для идентификации клеточных линий гибридомы, которые продуцируют антитела, специфичные к антигену, представляющему интерес. ДНК, кодирующая переменные области тяжелой цепи и легкой цепи, может быть изолирована и связана с желательными изотипическими константными областями тяжелой цепи и легкой цепи. Такой белок антитела может продуцироваться в клетке, такой как клетка CHO. Альтернативно, ДНК, кодирующая антиген-специфичные химерные антитела или переменные домены легкой и тяжелой цепей, может быть изолирована непосредственно из антиген-специфичных лимфоцитов.

Сначала изолируют химерные антитела с высокой аффинностью, имеющие человеческую переменную область и мышиную константную область. Антитела характеризуют и отбирают по желательным характеристикам, включающим аффинность, селективность, эпитоп и т.д., используя стандартные методики, известные специалистам в данной области. Мышинные константные области заменяют на желательную человеческую константную область, чтобы генерировать полностью человеческое антитело изобретения, например IgG1 или IgG4 дикого типа или модифицированные. В то время, как выбранная константная область может варьировать в соответствии с конкретным применением, характеристики связывания антигена с высокой аффинностью и специфичностью к мишени сохраняются в переменной области.

Как правило, антитела, которые могут применяться в способах настоящего изобретения, обладают высокими аффинностями, как описано выше, при измерении посредством связывания с антигеном, либо иммобилизованным на твердой фазе или находящимся в жидкой фазе. Мышинные константные области заменяют на желательные человеческие константные области, чтобы генерировать полностью человеческие антитела изобретения. В то время, как выбранная константная область может варьировать в соответствии с конкретным применением, характеристики связывания антигена с высокой аффинностью и специфичностью к мишени сохраняются в переменной области.

Конкретные примеры человеческих антител или антигенсвязывающих фрагментов антител, которые специфически связываются с PCSK9, которые могут применяться в контексте способов настоящего изобретения, включают любые антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которые содержат три CDR тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащиеся в пределах переменной области тяжелой цепи (HCVR), имеющей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из ID NO:1 и 11, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90, по меньшей мере 95, по меньшей мере 98 или по меньшей мере 99% идентичности последовательности. Альтернативно, конкретные примеры человеческих антител или антигенсвязывающих фрагментов антител, которые специфически связываются с PCSK9, которые могут применяться в контексте способов настоящего изобретения, включают любые антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которые содержат три CDR тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащиеся в пределах переменной области тяжелой цепи (HCVR), имеющей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из ID NO: 37, 45, 53, 61, 69, 77, 85, 93, 101, 109, 117, 125, 133, 141, 149, 157, 165, 173, 181, и 189, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90, по меньшей мере 95,

по меньшей мере 98 или по меньшей мере 99% идентичности последовательности. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент могут содержать три CDR легкой цепи (LCVR1, LCVR2, LCVR3), содержащиеся в пределах варибельной области легкой цепи (LCVR) имеющей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из ID NO: 6 и 15, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90, по меньшей мере 95, по меньшей мере 98 или по меньшей мере 99% идентичности последовательности. Альтернативно, антитело или антигенсвязывающий фрагмент могут содержать три CDR легкой цепи (LCVR1, LCVR2, LCVR3), содержащиеся в пределах варибельной области легкой цепи (LCVR), имеющей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из ID NO: 41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 97, 105, 113, 121, 129, 137, 145, 153, 161, 169, 177, 185, и 193, или по существу аналогичную ей последовательность, имеющую по меньшей мере 90, по меньшей мере 95, по меньшей мере 98 или по меньшей мере 99% идентичности последовательности.

Идентичность последовательности между двумя аминокислотными последовательностями определяют на протяжении полной длины эталонной аминокислотной последовательности, т.е. аминокислотной последовательности, идентифицированной с SEQ ID NO, используя наилучшее выравнивание последовательности и/или по области наилучшего выравнивания последовательности между двумя аминокислотными последовательностями, где наилучшее выравнивание последовательности можно получить с использованием известных в данной области программных средств, например Align, используя стандартные установки, предпочтительно EMBOSS::игла, Матрица: Blosum62, Открытие гэпа 10,0, Продолжение гэпа 0,5.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, антитело или антигенсвязывающий белок содержит шесть CDR (HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3) из пар аминокислотных последовательностей варибельной области тяжелой и легкой цепи (HCVR/LCVR), выбранных из группы, состоящей из ID NO:1/6 и 11/15. Альтернативно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, антитело или антигенсвязывающий белок содержит шесть CDR (HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3) из пар аминокислотных последовательностей варибельной области тяжелой и легкой цепи (HCVR/LCVR), выбранных из группы, состоящей из ID NO:37/41, 45/49, 53/57, 61/65, 69/73, 77/81, 85/89, 93/97, 101/105, 109/113, 117/121, 125/129, 133/137, 141/145, 149/153, 157/161, 165/169, 173/177, 181/185 и 189/193.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, антитело против PCSK9, или антигенсвязывающий белок, которые могут применяться в способах настоящего изобретения, имеют аминокислотные последовательности HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3, выбранные из SEQ ID NO:2/3/4/7/8/10 (mAb316P [также именуемое "REGN727" или "алирокумаб"]) и 12/13/14/16/17/18 (mAb300N) (См. Опубликованную патентную заявку США № 2010/0166768) и 12/13/14/16/17/18, где SEQ ID NO:16 содержит замену гистидина на лейцин по аминокислотному остатку 30 (L30H).

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, антитело или антигенсвязывающий белок содержит пары аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, выбранных из группы, состоящей из ID NO:1/6 и 11/15. В некоторых иллюстративных вариантах осуществления, антитело или антигенсвязывающий белок содержит аминокислотную последовательность HCVR с SEQ ID NO:1 и аминокислотную последовательность LCVR с SEQ ID NO:6. В некоторых иллюстративных вариантах осуществления, антитело или антигенсвязывающий белок содержит аминокислотную последовательность HCVR с SEQ ID NO:11 и аминокислотную последовательность LCVR с SEQ ID NO:15. В некоторых иллюстративных вариантах осуществления, антитело или антигенсвязывающий белок содержит аминокислотную последовательность HCVR с SEQ ID NO:11 и аминокислотную последовательность LCVR с SEQ ID NO:15, содержащую замену гистидина на лейцин по аминокислотному остатку 30 (L30H).

Фармацевтические композиции и способы введения.

Настоящее изобретение включает способы, которые включают введение ингибитора PCSK9 пациенту, где ингибитор PCSK9 содержится в фармацевтической композиции. Фармацевтические композиции согласно изобретению составляют с подходящими носителями, эксципиентами и другими средствами, которые обеспечивают подходящие перенос, доставку, переносимость и т.п. Множество соответствующих лекарственных форм можно найти в фармакологическом справочнике, известном всем химикам-фармацевтам: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Эти лекарственные формы включают, например, порошки, пасты, мази, желе, воска, масла, липиды, везикулы, содержащие липиды (катионные или анионные) (такие как LIPOFECTIN™), ДНК-конъюгаты, безводные впитывающие пасты, эмульсии типа масло-в-воде и вода-в-масле, эмульсии с карбоваксом (полиэтиленгликолями с различными молекулярными массами), полутвердые гели и полутвердые смеси, содержащие карбовакс. См. также Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

Иллюстративные фармацевтические лекарственные формы, содержащие антитела против PCSK9, которые могут применяться в контексте настоящего изобретения, включают любые из лекарственных форм, приведенных в US 8,795,669 (описывающих, среди прочего, иллюстративные лекарственные формы, содержащие алирокумаб), или в WO 2013/166448 или WO 2012/168491.

Известны и могут применяться различные системы доставки для введения фармацевтической композиции изобретения, например, инкапсулирование в липосомы, микрочастицы, микрокапсулы, рекомбинантные клетки, способные к экспрессии мутантных вирусов, опосредованный рецептором эндоцитоз (см., например, Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432). Способы введения включают, но не ограничиваются перечисленными, внутрикожный, внутримышечный, внутрибрюшинный, внутривенный, подкожный, интраназальный, эпидуральный и пероральный пути. Композиция может вводиться любым удобным путем, например посредством инфузии или болюсной инъекции, посредством всасывания через эпителиальные или слизисто-кожные выстилки (например, слизистую оболочку полости рта, ректальную и кишечную слизистую оболочку и т.д.) и может вводиться вместе с другими биологически активными средствами.

Фармацевтическую композицию настоящего изобретения можно доставлять подкожно или внутривенно с помощью стандартной иглы и шприца. В дополнение, по отношению к подкожной доставке, устройство для доставки в виде ручки можно легко применять при доставке фармацевтической композиции настоящего изобретения. Такое устройство для доставки в виде ручки может быть в виде устройства для многократного использования или одноразового действия. В устройстве многократного использования для доставки в виде ручки обычно используют сменный картридж, который содержит фармацевтическую композицию. Как только всю фармацевтическую композицию внутри картриджа вводят, и картридж становится пустым, пустой картридж может быть легко удален и заменен на новый картридж, который содержит фармацевтическую композицию. Устройство для доставки в виде ручки затем может быть использовано повторно. В устройстве в виде ручки одноразового действия для доставки, сменный картридж отсутствует. Чаще всего, устройство в виде ручки одноразового действия для доставки поступает предварительно заполненным фармацевтической композицией, содержащейся в емкости внутри устройства. Как только емкость опустошают от фармацевтической композиции, целое устройство выбрасывают.

Многочисленные устройства многократного использования в виде ручки и устройств для аутоинъекторной доставки имеют применения при подкожной доставке фармацевтической композиции настоящего изобретения. Примеры включают, но не ограничиваются приведенными, AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), ручку DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland), ручку HUMALOG MIX 75/25™, ручку HUMALOG™, ручку HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly и Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II и III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), ручку BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ и OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Germany), среди других. Примеры устройств многократного использования в виде ручки для доставки, имеющих применения при подкожной доставке фармацевтической композиции настоящего изобретения включают, но не ограничиваются приведенными, ручку SOLOSTAR™ (sanofi-aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk) и KWIKPEN™ (Eli Lilly), SURECLICK™ Autoinjector (Amgen, Thousand Oaks, CA), PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN (Dey, L.P.) и ручку HUMIRA™ Pen (Abbott Labs, Abbott Park IL), среди других.

В некоторых ситуациях фармацевтическую композицию можно доставлять в системе с контролируемым высвобождением. В одном варианте осуществления, можно применять насос (см. Langer, выше; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201). В одном другом варианте осуществления, могут применяться полимерные материалы; см., Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida. В еще одном другом варианте осуществления, систему с контролируемым высвобождением можно размещать в близости от мишени для композиции, что, таким образом, требует только фракцию системной дозы (см., например, Goodson, 1984, in Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138). Другие системы с контролируемым высвобождением обсуждаются в обзоре Langer, 1990, Science 249:1527-1533.

Инъекционные препараты могут включать дозированные формы для внутривенных, подкожных, внутрикожных и внутримышечных инъекций, капельных инфузий и т.д. Эти инъекционные препараты могут быть получены известными способами. Например, инъекционные препараты могут быть получены, например, посредством растворения, суспендирования или эмульгирования антитела или его соли, описанных выше, в стерильной водной среде или масляной среде, традиционно применяемых для инъекций. Водными средами для инъекций являются, например, физиологический раствор, изотонический раствор, содержащий глюкозу, и другие вспомогательные средства и т.д., которые могут применяться в комбинации с соответствующим солюбилизатором, таким как спирт (например, этанол), полиспирт (например, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль), неионное поверхностно-активное вещество (например, полисорбат 80, HCO-50 (полиоксиэтиленовый (50 моль) аддукт гидрированного касторового масла)), и т.д. В качестве масляной среды используют, например, кунжутное масло, соевое масло и т.д., которые могут применяться в комбинации с солюбилизатором, таким как бензилбензоат, бензиловый спирт и т.д. Инъекционную форму, полученную таким образом, предпочтительно используют для заполнения соответствующей ампулы.

Преимущественным образом, фармацевтические композиции для перорального или парентерального применения, описанные выше, получают в дозированных формах в виде единичной дозы, приспособ-

ленной для соответствия дозе активных ингредиентов. Такие дозированные формы в единичной дозе включают, например, таблетки, пилюли, капсулы, инъекционные формы (ампулы), суппозитории и т.д.

Дозировка.

Количество ингибитора PCSK9 (например, антитела против PCSK9), вводимое субъекту согласно способам настоящего изобретения, представляет собой, как правило, терапевтически эффективное количество. Как применяют в данном описании, фраза "терапевтически эффективное количество" означает дозу ингибитора PCSK9, которая приводит к обнаруживаемому снижению (по меньшей мере на около 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75% или более от исходного уровня) по одному или нескольким параметрам, выбранным из группы, состоящей из LDL-C, ApoB100, не-HDL-C, общего холестерина, VLDL-C, триглицеридов, Lp(a) и ремнантного холестерина, или количество, которое снижает или устраняет потребность пациента в аферезе липопротеинов, или которое снижает у пациента нормализованный показатель афереза (как описано в другом месте данного документа).

В случае антитела против PCSK9, терапевтически эффективное количество может составлять от около 0,05 до около 600 мг, например около 0,05 мг, около 0,1, около 1,0, около 1,5, около 2,0, около 10, около 20, около 30, около 40, около 50, около 60, около 70, около 80, около 90, около 100, около 110, около 120, около 130, около 140, около 160, около 170, около 180, около 190, около 200, около 210, около 220, около 230, около 240, около 250, около 260, около 270, около 280, около 290, около 300, около 310, около 320, около 330, около 340, около 350, около 360, около 370, около 380, около 390, около 400, около 410, около 420, около 430, около 440, около 450, около 460, около 470, около 480, около 490, около 500, около 510, около 520, около 530, около 540, около 550, около 560, около 570, около 580, около 590 или около 600 мг антитела против PCSK9. Согласно некоторым иллюстративным вариантам осуществления настоящего изобретения, терапевтически эффективное количество антитела против PCSK9 составляет 75, 150 или 300 (например, в случае алирокумаб), или 140 или 420 мг (например, в случае эволокумаб). Другие дозируемые количества ингибиторов PCSK9 будут понятными для рядовых специалистов в данной области и предусмотрены в объеме настоящего изобретения.

Количество антитела против PCSK9, содержащееся в индивидуальных дозах может быть выражено в миллиграммах антитела на килограмм массы тела пациента (т.е. мг/кг). Например, антитело против PCSK9 может вводиться пациенту при дозе от около 0,0001 до около 10 мг/кг массы тела пациента.

Комбинированные терапии.

Как описано где-либо в другом месте данного документа, способы настоящего изобретения могут включать введение ингибитора PCSK9 пациенту в комбинации с ("наряду с") назначенной пациенту прежде липидснижающей терапией. Например, в контексте снижения или устранения потребности в аферезе липопротеинов, ингибитор PCSK9 может вводиться пациенту в комбинации с устойчивым ежедневным терапевтическим режимом приема статинов. Иллюстративные ежедневные терапевтические режимы приема статинов, в комбинации с которыми может вводиться ингибитор PCSK9, в контексте настоящего изобретения включают, например, аторвастатин (10, 20, 40 или 80 мг ежедневно), (аторвастатин/эзетимиб 10/10 или 40/10 мг ежедневно), розувастатин (5, 10 или 20 мг ежедневно), церивастатин (0,4 или 0,8 мг ежедневно), питавастатин (1, 2 или 4 мг ежедневно), флувастатин (20, 40 или 80 мг ежедневно), симвастатин (5, 10, 20, 40 или 80 мг ежедневно), симвастатин/эзетимиб (10/10, 20/10, 40/10 или 80/10 мг ежедневно), ловастатин (10, 20, 40 или 80 мг ежедневно), правастатин (10, 20, 40 или 80 мг ежедневно) и их комбинации. Другие липидснижающие терапии, в комбинации с которыми ингибитор PCSK9 может вводиться в контексте настоящего изобретения, включают, например, (1) средство, которое ингибирует захват холестерина и/или повторное всасывание желчной кислоты (например, эзетимиб); (2) средство, которое усиливает катаболизм липопротеинов (такое как ниацин); и/или (3) активаторы фактора транскрипции LXR, которые играют роль при устранении холестерина, такие как 22-гидроксихолестерин.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения, предоставлены способы, включающие введение ингибитора PCSK9 (например, антитела против PCSK9, такого как алирокумаб, эволокумаб, бокоцизумаб, лоделцизумаб или ралпанцизумаб) пациенту в комбинации с ингибитором ангиопоэтин-подобного белка 3 (например, антителом против ANGPTL3, таким как REGN1500), ингибитором ангиопоэтин-подобного белка 4 (например, антитела против ANGPTL4, таким как антитело против ANGPTL4 именуемое в Патенте США № 9,120,851 как "H1H268P" или "H4H284P"), или ингибитором ангиопоэтин-подобного белка 8 (например, антителом против ANGPTL8).

В контексте способов настоящего изобретения, дополнительные терапевтически активные компоненты (компоненты), например любые из средств, приведенных выше, или их производных, могут вводиться непосредственно до, одновременно с, или вскоре после введения ингибитора PCSK9; (для целей настоящего раскрытия, такие режимы введения считаются введением ингибитора PCSK9 "в комбинации с" дополнительным терапевтически активным компонентом). Настоящее изобретение включает фармацевтические композиции и способы их применения, в которых ингибитор PCSK9 комбинируют с одним или несколькими дополнительными терапевтически активными компонентами (компонентами), как описано где-либо в другом месте данного документа.

Режимы введения.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения, множество доз ингибито-

ра PCSK9 (т.е. фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9) может вводиться субъекту в течение заданного периода действия (например, наряду с суточным терапевтическим режимом приема статинов или другой исходной липидснижающей терапией). Способы согласно этому аспекту изобретения включают последовательное введение субъекту множества доз ингибитора PCSK9. Как применяют в данном описании, "последовательное введение" означает, что каждую дозу ингибитора PCSK9 вводят субъекту при различной временной отметке, например в различные дни, разделенные предварительно определенным интервалом (например, часами, днями, неделями или месяцами). Настоящее изобретение включает способы, которые включают последовательное введение пациенту единственной начальной дозы ингибитора PCSK9, с последующими одной или более вторичными дозами ингибитора PCSK9, и необязательно с последующими одной или более третичными дозами ингибитора PCSK9.

Термины "начальная доза", "вторичные дозы", и "третичные дозы" относятся к временной последовательности введения индивидуальных доз фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9. Таким образом, "начальная доза" является дозой, которую вводят в начале режима лечения (также именуемой "доза исходного уровня"); "вторичные дозы" являются дозами, которые вводят после начальной дозы; и "третичные дозы" являются дозами, которые вводят после вторичных доз. Начальные, вторичные и третичные дозы могут все содержать одинаковое количество ингибитора PCSK9, но, обычно, могут отличаться друг от друга в том, что касается частоты введения. В некоторых вариантах осуществления, однако, количество ингибитора PCSK9, содержащееся в начальных, вторичных и/или третичных дозах, отличается друг от друга (например, регулируется с повышением или понижением соответствующим образом) во время курса лечения. В некоторых вариантах осуществления, две или более (например, 2, 3, 4, или 5) доз вводят в начале режима лечения в виде "нагрузочных доз" с последующими последовательными дозами, которые вводят на менее частой основе (например, "поддерживающих доз").

Согласно иллюстративным вариантам осуществления настоящего изобретения, каждую вторичную и/или третичную дозу вводят через от 1 до 26 (например, 1, 1^{1/2}, 2, 2^{1/2}, 3, 3^{1/2}, 4, 4^{1/2}, 5, 5^{1/2}, 6, 6^{1/2}, 7, 7^{1/2}, 8, 8^{1/2}, 9, 9^{1/2}, 10, 10^{1/2}, 11, 11^{1/2}, 12, 12^{1/2}, 13, 13^{1/2}, 14, 14^{1/2}, 15, 15^{1/2}, 16, 16^{1/2}, 17, 17^{1/2}, 18, 18^{1/2}, 19, 19^{1/2}, 20, 20^{1/2}, 21, 21^{1/2}, 22, 22^{1/2}, 23, 23^{1/2}, 24, 24^{1/2}, 25, 25^{1/2}, 26, 26^{1/2}, или более) недель после непосредственно предшествующей дозы. Фраза "непосредственно предшествующая доза", как применяют в данном описании, означает, в последовательности множества введений, дозу антиген-связывающей молекулы, которую вводят пациенту до введения следующей же дозы в последовательности без каких-либо промежуточных доз.

Способы согласно этому аспекту изобретения могут включать введение пациенту любого числа вторичных и/или третичных доз ингибитора PCSK9. Например, в некоторых вариантах осуществления, пациенту вводят лишь единственную вторичную дозу. В других вариантах осуществления пациенту вводят две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) вторичных доз. Аналогично, в некоторых вариантах осуществления пациенту вводят лишь единственную третичную дозу. В других вариантах осуществления пациенту вводят две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) третичных доз.

В вариантах осуществления, включающих множество вторичных доз, каждая вторичная доза может вводиться с той же частотой, как и другие вторичные дозы. Например, каждая вторичная доза может вводиться пациенту через от 1 до 2, 4, 6, 8 или более недель после непосредственно предшествующей дозы. Аналогично, в вариантах осуществления, включающих множество третичных доз, каждая третичная доза может вводиться с той же частотой, как и другие третичные дозы. Например, каждая третичная доза может вводиться пациенту через 1-2, 4, 6, 8 или более недель после непосредственно предшествующей дозы. Альтернативно, частота, с которой вторичные и/или третичные дозы вводят пациенту, может варьировать в течение прохождения режима лечения. Частота введения может также регулироваться во время курса лечения лечащим врачом в зависимости от потребностей индивидуального пациента после клинического обследования.

Настоящее изобретение включает режимы введения, включающие вариант с повышением дозы (также называемый в данном описании "модификацией дозы"). Как применяют в данном описании, "вариант с повышением дозы" означает, что, после получения конкретного числа доз ингибитора PCSK9, если пациент не достиг установленного снижения одного или более заданных терапевтических параметров, дозу ингибитора PCSK9 в дальнейшем увеличивают. Например, в случае режима лечения, включающего введение доз по 75 мг антитела против PCSK9 пациенту с частотой один раз в две недели, если через 8 недель (т.е. 5 доз, вводимых на Неделе 0, Неделе 2 и Неделе 4, Неделе 6 и Неделе 8), пациент не достигает сывороточной концентрации LDL-C менее 70 мг/дл, тогда дозу антитела против PCSK9 увеличивают до, например, 150 мг, вводимых в дальнейшем один раз в две недели (например, начиная с Неделе 10 или Неделе 12 или позднее).

В некоторых вариантах осуществления, антитело против PCSK9 вводят субъекту при дозе около 75 мг один раз в две недели, например, в объеме по меньшей мере трех доз (или на протяжении режима лечения, охватывающего дни, недели, месяцы или годы).

В некоторых вариантах осуществления, антитело против PCSK9 вводят субъекту при дозе около 150 мг один раз в две недели, например, в объеме по меньшей мере трех доз (или на протяжении режима лечения, охватывающего дни, недели, месяцы или годы).

В нескольких вариантах осуществления, антитело вводят субъекту при дозе около 75 мг один раз в две недели в течение 12 недель, и доза остается равной 75 мг один раз в две недели, если, на неделе 8, значение LDL-C субъекта будет менее 100 мг/дл и будет 30% снижение LDL-C.

В других вариантах осуществления, антитело вводят субъекту при дозе около 75 мг один раз в две недели в течение 12 недель, и дозу повышают до около 150 мг один раз в две недели если, на неделе 8, значение LDL-C субъекта будет больше или равно 100 мг/дл.

В нескольких вариантах осуществления, антитело вводят субъекту при дозе около 75 мг один раз в две недели в течение 12 недель, и доза остается равной 75 мг один раз в две недели, если, на неделе 8, значение LDL-C субъекта будет менее 70 мг/дл и будет 30% снижение LDL-C.

В одном другом варианте осуществления, антитело вводят субъекту при дозе около 300 мг один раз в четыре недели.

В дополнительном варианте осуществления, антитело вводят субъекту при дозе около 300 мг один раз в четыре недели в объеме трех доз, и дозу изменяют на 150 мг один раз в две недели в течение других 36 недель если, на неделе 8, субъект не достиг предварительно определенной цели лечения, или субъект не имеет по меньшей мере 30% снижения LDL-C от исходного уровня.

В некоторых вариантах осуществления, антитело против PCSK9 вводят субъекту при дозе около 150 мг один раз в четыре недели в объеме по меньшей мере трех доз.

В нескольких вариантах осуществления, антитело вводят субъекту при дозе около 150 мг один раз в четыре недели в течение 12 недель, и доза остается равной 150 мг один раз в четыре недели, если, на неделе 8, значение LDL-C субъекта будет менее 100 мг/дл и будет 30% снижение LDL-C.

В других вариантах осуществления, антитело вводят субъекту при дозе около 150 мг один раз в четыре недели в течение 12 недель, и дозу повышают до около 300 мг один раз в две недели, если, на неделе 8, значение LDL-C субъекта будет больше или равно 100 мг/дл.

В нескольких вариантах осуществления, антитело вводят субъекту при дозе около 150 мг один раз в четыре недели в течение 12 недель, и доза остается равной 150 мг один раз в четыре недели в течение других 12 недель, если, на неделе 8, значение LDL-C субъекта будет менее 70 мг/дл и будет 30% снижение LDL-C.

В одном другом варианте осуществления, антитело вводят субъекту при дозе около 300 мг один раз в четыре недели.

В дополнительном варианте осуществления, антитело вводят субъекту при дозе около 300 мг один раз в четыре недели в объеме трех доз, и дозу изменяют на 150 мг один раз в две недели в течение других 36 недель, если, на неделе 8, субъект не достиг предварительно определенной цели лечения, или субъект не имеет по меньшей мере 30% снижения LDL-C от исходного уровня.

Примеры

Следующие примеры предлагаются, для того, чтобы предоставить рядовым специалистам в области полное раскрытие и описание того, как производить и применять способы и композиции изобретения, и не предназначены для ограничения того, что авторы изобретения считают их изобретением. Были приложены усилия, чтобы обеспечить точность в отношении применяемых числовых значений (например, для количеств, температуры и т.д.), но следует учитывать некоторые ошибки эксперимента и отклонения. Если не указано иным образом, части являются массовыми частями, молекулярная масса представляет собой среднюю молекулярную массу, температура приводится в градусах по шкале Цельсия, и давление является атмосферным или близким к атмосферному.

Пример 1. Генерация человеческих антител к человеческой PCSK9.

Человеческие антитела против PCSK9 генерировали, как показано в патенте США № 8,062,640. Иллюстративный ингибитор PCSK9, используемый в следующем Примере, представляет собой человеческое антитело против PCSK9, обозначенное как "mAb316P", также известное как "REGN727" или "алирокумаб". mAb316P имеет следующие характеристики аминокислотной последовательности: тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO:5, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO:9; переменную область тяжелой цепи (HCVR), содержащую SEQ ID NO:1, и переменный домен легкой цепи (LCVR), содержащий SEQ ID NO:6; область 1 тяжелой цепи, определяющую комплементарность (HCDR1), содержащую SEQ ID NO:2, HCDR2, содержащую SEQ ID NO:3, HCDR3, содержащую SEQ ID NO:4, область 1 легкой цепи, определяющую комплементарность (LCDR1), содержащую SEQ ID NO:7, LCDR2, содержащую SEQ ID NO:8 и LCDR3, содержащую SEQ ID NO:10.

Пример 2. Рандомизированное в условиях двойной анонимности, плацебо-контролируемое исследование с параллельными группами для оценки эффективности действия и безопасности алирокумаб у пациентов с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией, которым проводится терапия с аферезом липидов.

Введение.

Цель настоящего исследования заключалась в оценке воздействия 150 мг алирокумаб, вводимых один раз в две недели ("Q2W") в сравнении с плацебо на частоту проведения процедур лечения аферезом LDL у пациентов с HeFH, которым проводится терапия с аферезом LDL.

В данное исследование были включены взрослые мужчины и женщины, у которых диагностировали HeFH, которым проводили терапию с аферезом LDL с частотой один раз в неделю или один раз в две

недели. Исходное лечение субъектов с использованием ЛМТ поддерживали на протяжении всего исследования. У таких пациентов выбор плацебо в качестве контроля является соответствующим для целей этого исследования, так как он обеспечивает более достоверную оценку эффективности действия и безопасности алирокумаб.

Среднее снижение значения LDL-C находится в интервале от 30 до 75% в зависимости от метода и продолжительности афереза (Bambauer et al., *ScientificWorldJournal*, 2012, 2012:1-19). При проведении лечения еженедельно или два раза в неделю, уровни LDL-C могут быть снижены на 40-50%. Согласно настоящему исследованию, аферез не проводили, когда значение LDL-C при этом визите было на $\geq 30\%$ ниже, чем исходное (до афереза) значение LDL-C. Уровни LDL-C повышаются до исходного уровня после каждой процедуры афереза, но не достигают исходных уровней; при повторном аферезе еженедельно или два раза в неделю, исходные уровни продолжают падать до достижения плато (Thompson et al., *Atherosclerosis*, 2006, 189:31-38). Как таковой, критерий определения необходимости афереза, основанный на 30% снижении уровней LDL-C, является оправданным, так как это снижение, если его наблюдают при введении алирокумаб, будет постоянным с течением времени, достигая приблизительно такого же уровня снижения LDL-C, как и при процедуре афереза.

Режимы дозирования алирокумаб Q2W (75 и 150 мг SC) и Q4W (150 и 300 мг SC) оценивали на другой фазе 3 испытаний алирокумаб. На основании результатов 2 исследований по подбору доз, режим дозирования Q2W выбирали для поддержания постоянного снижения LDL-C на протяжении интервала между дозированием у всех пациентов, с максимальной эффективностью действия при 12 неделях, обеспеченной дозированием 150 мг Q2W. Пациенты с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией обычно имеют высокие исходные уровни LDL-C. С учетом того, что эти пациенты имели пожизненное воздействие повышенного LDL-C, их целевое значение LDL-C составляет либо 100 или 70 мг/дл, в зависимости от их истории CVD или других факторов риска. Чтобы достигнуть и поддержать их целевое значение LDL-C, предполагали, что для этих пациентов наиболее вероятно требуются самые мощные дозы алирокумаб и с частотой введения, необходимой для поддержания этого воздействия в конце интервала дозирования. Следовательно, для этого исследования была выбрана доза, равная 150 мг Q2W.

В течение периода лечения в условиях двойной анонимности этого исследования, 150 мг алирокумаб Q2W, вводимые в течение 18 недель пациентам с HeFH, которым требовался аферез каждые 1 или 2 недели для снижения LDL-C, оценивали на предмет способности снижать частоту проведения афереза от недели 7 до недели 18 в сравнении с частотой во время 8 недель до скрининга. Пациенты получали 150 мг алирокумаб Q2W до недели 76 в течение периода лечения в открытом режиме.

Предварительные данные фармакокинетики (ФК) фазы 2 исследований, DF11565, DF11566 и R727-CL-1003, показали, что воздействие алирокумаб падало в течение 8-недельного проспективного периода, который следовал за лечением в течение периода в условиях двойной анонимности, при все еще обнаруживаемых общих сывороточных концентрациях алирокумаб, но на очень низких уровнях. Следовательно, для подтверждения достаточно низких, неэффективных сывороточных концентраций алирокумаб, пациентов наблюдали в течение проспективного периода, равного 8 неделям (т.е. 10 недель после последней дозы).

Цели исследования.

Первичная цель исследования состояла в оценке эффекта от 150 мг алирокумаб Q2W в сравнении с плацебо на частоту терапий с аферезом LDL у пациентов с HeFH, которым проводили терапию с аферезом LDL еженедельно или два раза в неделю.

Вторичные цели исследования заключались в следующем: (а) Оценить эффект 150 мг алирокумаб Q2W на уровни LDL-C у пациентов с HeFH, которым проводили терапию с аферезом LDL; (б) Оценить эффект 150 мг алирокумаб Q2W на следующие липидные параметры: ApoB, не-HDL-C, общий холестерин, Lp(a), HDL-C, TG, и ApoA-1 у пациентов с HeFH, которым проводится терапия с аферезом LDL во время исследования; (с) Оценить безопасность и переносимость 150 мг алирокумаб Q2W у пациентов с HeFH, которым проводится терапия с аферезом LDL; (d) Оценить ФК 150 мг алирокумаб Q2W у пациентов с HeFH, которым проводится терапия с аферезом LDL (QW в сравнении с Q2W); (e) Оценить развитие выработки антител против алирокумаб; (f) Оценить уровни PCSK9 в ответ на терапию с алирокумаб, а также до и после афереза; и (g) Оценить качество жизни ("QOL") у этих пациентов.

План клинического исследования.

Настоящее исследование представляло собой рандомизированное, в условиях двойной анонимности, плацебо-контролируемое, в параллельных группах исследование пациентов с HeFH, которым проводится терапия с аферезом LDL один раз в неделю или в 2 недели.

Исследование состояло из 4 периодов: скрининг, период лечения в условиях двойной анонимности, период лечения в открытом режиме и проспективный период. Период лечения в условиях двойной анонимности включал 2 интервала: от дня 1 до недели 6 (с планируемым ведением исследуемого лекарственного средства в дни 1, 15 и 29), когда частота афереза будет фиксирована согласно установленному графику для индивидуального пациента, и от недели 7 до недели 18 (с планируемым ведением исследуемого лекарственного средства в дни 43, 57, 71, 85, 99 и 113), когда частота афереза будет регулироваться на основании ответной реакции пациента на лечение.

Скрининг: Пациенты, которые находились на стабильном графике афереза (каждые 7 или 14 дней), при стабильных установках афереза в течение по меньшей мере 4 недель до визита скрининга (неделя -2) и стабильной исходной медицинской LMT в течение по меньшей мере 8 недель до визита скрининга (неделя -2), входили в 2-недельный период скрининга.

Лечение в условиях двойной анонимности: Пациенты, которые соответствовали всем критериям включения и ни одному из критериев исключения были рандомизированно разделены при отношении 2:1 для получения 18-недельного лечения: 150 мг алирокумаб SC Q2W, или Плацебо для алирокумаб SC Q2W.

Лечебные инъекции во время периода лечения в условиях двойной анонимности вводили Q2W, начиная с дня рандомизации (неделя 0 [день 1]/визит 2). Пациентов подвергали мониторингу на клинической базе в течение 30 мин после первой дозы. Если аферез LDL совпадал с ведением исследуемого лекарственного средства, исследуемое лекарственное средство вводили сразу же после завершения процедуры афереза LDL.

От дня 1 до недели 6, частоту афереза фиксировали согласно установленному графику для индивидуального пациента (QW или Q2W). Начиная с недели 7, аферез LDL проводили на основании значения LDL-C при этом визите (определенного на месте проведения тестирования). Аферез LDL НЕ проводили, когда значение LDL-C при этом визите было по меньшей мере на 30% ниже, чем значение LDL-C на исходном уровне до афереза (день 1). Критерий определения необходимости афереза, основанный на 30% снижении уровней LDL-C, является оправданным, так как это снижение, если его наблюдают при введении алирокумаб, будет постоянным с течением времени, достигая приблизительно такого же уровня снижения LDL-C, как и при процедуре афереза. Исследователи оставались в условиях анонимности по отношению к лабораторным значениям LDL-C в месте проведения и лишь получали сигнал предупреждения по поводу того, должен или нет проводиться аферез LDL.

Лечение в открытом режиме: При лечении в периоде открытого режима, пациенты получали 150 мг алирокумаб ПК Q2W. Лечение продолжали без перерывов от последней дозы исследуемого лекарственного средства во время периода лечения в условиях двойной анонимности (последней дозы на неделе 16) до недели 18 (первой при лечении в периоде открытого режима), вплоть до недели 76.

Первую инъекцию во время периода лечения в открытом режиме вводили при визите на неделе 18 (первом визите периода лечения в открытом режиме) как часть обучения пациента вводу инъекции. Последующие инъекции вводились пациентом или уполномоченным опекуном (супругом, родственником и т.д.) в предпочтительном для пациента месте нахождения (например, дома или на рабочем месте). Пациентам также разрешалось выбирать возвращение на сайт Q2W для получения инъекции, вводимой персоналом исследования.

Лечение аферезом не требуется во время периода лечения исследования в открытом режиме исследования. На усмотрение исследователя, пациентам разрешалось продолжать проведение процедур афереза при необходимости. При событии, когда планируемая процедура афереза совпадала с клиническим визитом или днем дозирования алирокумаб, оценки исследования проводили до афереза, а алирокумаб вводили после афереза.

Проспективный период: пациентов наблюдали в конце визита, предусмотренного исследованием на неделе 86.

Исследования в течение всего периода испытаний: все образцы для клинической лаборатории (для анализа липидов и в частности липидограмм) и оценки ФК получали немедленно до и немедленно после процедуры афереза LDL (если аферез LDL проводят при этом визите) и перед ведением исследуемого лекарственного средства.

Для тех пациентов, которым не проводили аферез LDL при визите, все образцы для клинической лабораторной оценки получали перед введением исследуемого лекарственного средства.

Общую оценку безопасности проводили посредством мониторинга/оценки ТЕАЕ, физических упражнений, основных показателей жизнедеятельности (частоты пульса и артериального давления), электрокардиограмм (ЭКГ), и клинической безопасности лабораторных тестов при заранее установленных отметках времени. Оценивали потенциальное появление антител против алирокумаб. Уровни PCSK9 оценивали до и после афереза.

Применение всех медицинских препаратов и биологически активных пищевых добавок (включая потребление красных ферментированных продуктов), известных как изменяющих сывороточные липиды, включающих (но не ограничиваясь ими) статины, эзетимиб, фибраты, ниацин и секвестранты желчных кислот разрешалось, при условии, что эта терапия была стабильной в течение по меньшей мере 8 недель до визита скрининга (неделя -2). Пациентов инструктировали продолжать получение их исходной медицинской LMT на всем протяжении исследования, начиная со скрининга вплоть до конца визита во время лечения.

Диеты пациентов оставались стабильными на всем протяжении исследования, начиная со скрининга вплоть до конца визита во время лечения.

Режимы физических упражнений оставались стабильными на всем протяжении исследования, начиная со скрининга вплоть до конца визита во время лечения.

Отбор пациентов.

Протокол исследования требовал включения приблизительно 63 пациентов не менее чем в 15 исследовательских центрах в США и Германии. Пациентов рандомизировали следующим образом: приблизительно одна треть включенных пациентов (~21) получали плацебо; и приблизительно две трети включенных пациентов (~42) получали алирокумаб.

Исследуемая популяция состояла из взрослых мужчин и женщин, у которых диагностировали HeFH, которым каждые 1 или 2 недели проводят терапию с аферезом LDL.

Рандомизацию разделяли согласно: частоте афереза: QW в сравнении с Q2W; и исходным уровням Lp(a): нормальным (<30 мг/дл) в сравнении с повышенным (\geq 30 мг/дл). Так как некоторые пациенты с повышенным LDL-C также имели повышенные уровни Lp(a), разделение обеспечивало соответствующее представление в группах плацебо/лечения.

Критерии включения: требовалось, чтобы пациенты, включенные в данное исследование, соответствовали условиям 1-6 (ниже), чтобы быть допущенными для включения в исследование:

- (1) мужчины и женщины в возрасте \geq 18 во время визита скрининга;
- (2) диагноз HeFH; (замечание: диагноз HeFH был поставлен либо на основании генотипирования или клинических критериев. Для тех пациентов, которые не были генотипированы, клинический диагноз может быть сделан на основании критериев Саймона-Брума с критериями для определенной FH, или критериев WHO/Голландской Липидной Сети с баллом $>$ 8 пунктов);
- (3) в рассматриваемое время им проводилась терапия с аферезом LDL QW в течение по меньшей мере 4 недель или Q2W в течение по меньшей мере 8 недель до визита скрининга (неделя -2), и терапию с аферезом начинали в течение по меньшей мере 5 месяцев до этого; (замечание: приемлемыми методами афереза являются: двойная мембранная фильтрация, иммуноадсорбция, индуцированное гепарином осаждение LDL, прямая адсорбция липидов, адсорбция сульфатом декстрана (плазмы), адсорбция сульфатом декстрана (цельной крови));
- (4) желание и возможность следовать графику клинических визитов и прохождения процедур, относящихся к исследованию;
- (5) предоставление подписанного информированного согласия; и
- (6) способность понимать и заполнять относящиеся к исследованию вопросники.

Критерии исключения: проспективные пациенты, которые соответствовали любым следующим критериям, были исключены из исследования:

- (1) гомозиготная FH;
- (2) исходная медицинская LMT (если применимо), которая не была стабильной в течение по меньшей мере 8 недель до визита скрининга (неделя -2);
- (3) график проведения афереза LDL/установки афереза, которые не были стабильными в течение по меньшей мере 4 недель до визита скрининга (неделя -2) для пациентов, которым аферез проводится еженедельно, и по меньшей мере 8 недель до визита скрининга (неделя -2) для пациентов, которым аферез проводится два раза в неделю;
- (4) график проведения афереза LDL, отличающийся от QW - Q2W;
- (5) инициация новой программы физических упражнений или физические упражнения, которые не оставались стабильными в интервале 8 недель до визита скрининга (неделя -2);
- (6) инициация новой диеты или диеты, которая не была стабильной в интервале 8 недель до визита скрининга (неделя -2);
- (7) применение нутрицевтиков или безрецептурных терапий, известных как воздействующих на липиды, при дозе/количестве, которые не были стабильными в течение по меньшей мере 8 недель до визита скрининга (неделя -2), или между скринингом и визитом рандомизации;
- (8) наличие любого клинически значимого неконтролируемого эндокринного заболевания, известного, как влияющего на сывороточные липиды или липопротеины;
- (9) признаки и симптомы гипотиреоза (заместительная терапия щитовидной железы разрешается);
- (10) анамнез бариатрической хирургии в интервале 12 месяцев до визита скрининга (неделя -2);
- (11) нестабильная масса тела (вариация $>$ 5 кг) в интервале 2 месяцев до визита скрининга (неделя -2);
- (12) впервые диагностированный (в интервале 3 месяцев до визита рандомизации (день 1)) сахарный диабет или слабоконтролируемый (гемоглобин A1c [HbA1c] $>$ 9%) диабет;
- (13) применение системных кортикостероидов, если они не используются в качестве заместительной терапии при заболевании гипофиза/надпочечников при стабильном режиме в течение по меньшей мере 6 недель до рандомизации; местные, внутрисуставные, назальные, ингаляционные и офтальмологические стероидные терапии не рассматриваются как "системные" и разрешаются;
- (14) применение терапии эстрогеном или тестостероном, если режим не был стабильным за прошедшие 6 недель до визита скрининга (неделя -2), и отсутствуют планы по изменению режима во время исследования;
- (15) систолическое артериальное давление $>$ 160 мм Hg или диастолическое артериальное давление $>$ 100 мм Hg при визите скрининга (неделя -2) или на время рандомизации (день 1) (замечание: оценка

артериального давления для отбора на участие в исследовании может быть получена во время визита, имеющего место между этими 2 визитами в случае, если пациент не принял, или не планировал принимать назначенные гипертензивные медицинские препараты при визите скрининга или визите рандомизации вследствие графика проведения афереза);

(16) анамнез инфаркта миокарда (МИ), нестабильной стенокардии, приведшей к госпитализации, операция аортокоронарного шунтирования (CABG), чрескожное коронарное вмешательство (PCI), неконтролируемая аритмия сердца, стентирование сонных артерий или хирургическое вмешательство, инсульт, преходящий ишемический приступ, или реваскуляризация сонных артерий в интервале 3 месяцев до визита скрининга (неделя -2), или эндоваскулярная процедура или хирургическое вмешательство по причине заболевания периферических сосудов в интервале 1 месяца до визита скрининга (неделя -2);

(17) анамнез сердечной недостаточности класса III или IV по шкале Нью-Йоркской ассоциации кардиологов в интервале 12 месяцев до визита скрининга;

(18) известный анамнез геморрагического инсульта;

(19) анамнез злокачественного новообразования в интервале прошедших 5 лет, за исключением подвергавшегося соответствующему лечению базально-клеточного рака кожи, плоскоклеточного рака кожи или рака шейки матки *in situ*;

(20) известный анамнез положительного результата тестирования на вирус иммунодефицита человека;

(21) применение каких-либо активных исследуемых лекарственных средств в интервале 1 месяца или 5 периодов полувыведения до скрининга, любого, который длиннее;

(22) пациенты, которые подвергались лечению по меньшей мере 1 дозой алирокумаб или любым другим моноклональным антителом против PCSK9 в любых других клинических исследованиях;

(23) состояния/ситуации, такие как: (а) Любая клинически значимая патология, идентифицируемая во время скрининга, которая, по мнению исследователя или любого младшего исследователя, могла бы помешать безопасному завершению исследования или ограничить оценку конечных точек; например основные системные заболевания, пациенты с ожидаемой короткой продолжительностью жизни; или (b) Рассматриваемые исследователем или любым младшим исследователем как неподходящие для этого исследования по любой причине, например: (i) считающиеся неспособными соответствовать конкретным требованиям протокола, таким как запланированные визиты; (ii) считающиеся неспособными переносить инъекции, как от пациента или исследователя; (iii) исследователь или любой младший исследователь, фармацевт, координатор исследования, другой исследовательский персонал или относящиеся к нему, непосредственно вовлеченные в проведение протокола, и т.д.; (iv) наличие любых других условий (например, географических или социальных), либо действительных или предполагаемых, которые, по мнению исследователя, могли бы ограничивать или лимитировать участие пациента в течение периода исследования;

(24) результаты лабораторных исследований во время периода скрининга (не включающие анализы при рандомизации): (а) положительный результат теста на поверхностный антиген гепатита В и/или антитела к гепатиту С; (b) положительный результат теста на сывороточный бета-hCG или теста мочи на беременность у женщин с репродуктивным потенциалом; (c) ТГ > 500 мг/дл (> 5,65 ммоль/л) (1 повторный анализ разрешается); (d) eGFR < 15 мл/мин/1,73 м² согласно уравнению с 4 переменными для исследования модификации диеты при заболевании почек (рассчитанная в Центральной Лаборатории); (e) аланинаминотрансфераза (ALT) или аспаратаминотрансфераза (AST) > 3 × верхний предел для нормы (ULN) (1 повторный анализ разрешается); (f) СРК > 3 × ULN (1 повторный анализ разрешается);

(25) известная гиперчувствительность к терапевтическим средствам на основе моноклональных антител или к любому компоненту лекарственного препарата;

(26) беременные или кормящие женщины;

(27) женщины с репродуктивным потенциалом, не защищенные высокоэффективным методом (методами) предупреждения беременности (как определено в форме информированного согласия [ICF] и/или в приложении к местному протоколу), и/или которые не склонны или не способны проходить тестирование на беременность. Женщины в постменопаузе должны быть аменорейными в течение по меньшей мере 12 месяцев.

Лечение в рамках исследования.

Лечение в рамках исследования представляло собой однократную ПК инъекцию 1 мл для 150 мг дозы алирокумаб или плацебо, обеспечиваемой в автоинжекторе или предварительно заполненном шприце, вводимой в брюшную полость, бедро или Q2W, вводимой в наружную область плеча.

При лечении в периоде в условиях двойной анонимности (от дня 1 до недели 18) пациентов, подходящих для участия в исследовании, рандомизировали для получения: 150 мг алирокумаб ПК Q2W, или Плацебо для алирокумаб ПК Q2W.

При лечении в периоде с открытым режимом пациенты получали в открытом режиме 150 мг алирокумаб ПК Q2W, начиная с недели 18, с последней дозой, вводимой на неделе 76.

Стерильный лекарственный препарат алирокумаб был поставлен при концентрации 150 мг/мл в гистидине, pH 6,0, полисорбате 20 и сахарозе в автоинжекторе или предварительно заполненном шприце.

Препарат плацебо, соответствующий алирокумаб, был поставлен в такой же лекарственной форме как алирокумаб, без добавления белка, в автоинжекторе или предварительно заполненном шприце.

Все пациенты и/или опекуны, которые сделали выбор в пользу инъекции исследуемого лекарственного средства вне клиники в дни получения дозы, обучались персоналом, проводящим исследование, перед введением инъекций. Пациентов/опекунов инструктировали по поводу введения исследуемого лекарственного средства при визите на неделе 18, и они самостоятельно вводили первую дозу в периоде лечения в открытом режиме при визите на неделе 18. Последующие инъекции Q2W вводились пациентом (самостоятельная инъекция) или указанным опекуном (супругом, родственником и т.д.) в месте, предпочтительном для пациента (например, дома или на рабочем месте).

Пациентам также предоставляли возможность возврата на сайт Q2W для получения инъекций, вводимых персоналом исследования.

Метод распределения по группам лечения.

Пациентов произвольным образом разделяли для получения плацебо, или 150 мг алирокумаб Q2W при отношении 1:2, осуществляя дизайн блочной рандомизации для обеспечения равномерного распределения по группам лечения. Рандомизацию стратифицировали в соответствии с частотой процедуры афереза (каждые 7 или 14 дней) и уровней Lp(a) (нормальных или повышенных). Включение в исследование ограничивали таким образом, что аферез проводился не более, чем двум третям пациентов.

Все пациенты, независимо от распределения в группы лечения в периоде лечения в условиях двойной анонимности, получали 150 мг алирокумаб Q2W в течение периода лечения в открытом режиме.

Сопутствующие лекарственные препараты.

Любое лечение, проводимое от времени информированного согласия до конца проспективного периода/окончательного визита исследования рассматривали как сопутствующее лечение. Это лечение включает медицинские препараты, прием которых начинался до исследования и продолжался во время исследования. Сопутствующие лекарственные препараты поддерживали на минимальном уровне во время исследования. Если для самочувствия пациента считалось необходимым, и было маловероятно, что пациенты препятствуют действию исследуемого лекарственного средства, то сопутствующие лекарственные препараты (отличающиеся от запрещенных для приема во время исследования) были разрешены для приема на усмотрение исследователя, при стабильной дозе (когда возможно).

Запрещенные медицинские препараты: Любая медицинская ЛМТ исходного уровня, которая не была стабильной по меньшей мере 8 недель до визита скрининга (неделя 2) была запрещена.

Разрешенные медицинские препараты: Применение всех медицинских препаратов и биологически активных пищевых добавок (включая потребление красных ферментированных продуктов), известных, как изменяющих сывороточные липиды, включающих, но не ограниченных перечисленными, статины, эзетимиб, фибраты, ниацин и секвестранты желчных кислот, разрешалось при условии, что эта терапия была стабильной в течение по меньшей мере 8 недель до визита скрининга (неделя 2). Пациентов инструктировали по продолжению приема их медицинской ЛМТ исходного уровня на всем протяжении исследования, начиная от скрининга вплоть до завершающего визита во время лечения.

Диеты пациентов оставались стабильными на всем протяжении исследования, начиная от скрининга вплоть до завершающего визита во время лечения.

Программы физических упражнений пациентов оставались стабильными на всем протяжении исследования, начиная от скрининга вплоть до завершающего визита во время лечения.

Конечные точки исследования.

Характеристики исходного уровня будут включать стандартные демографические показатели (например, возраст, расу, массу тела, рост и т.д.), характеристики заболевания, включающие анамнез и лекарственный анамнез для каждого пациента.

Первичные конечные точки эффективности: первичной конечной точкой эффективности является показатель процедур лечения аферезом в течение 12-недельного периода от недели 7 до недели 18, нормализованный по числу планируемых процедур лечения аферезом в соответствии с установленным графиком для каждого пациента при скрининге, от недели -10 до недели -2.

Нормализованный показатель афереза определяют для каждого пациента как: Число действительных процедур лечения аферезом, полученное от недели 7 до недели 18, разделенное на Число планируемых процедур лечения аферезом на рандомизационную страту на исходном уровне (6 для Q2W или 12 для QW).

В случае выбывания пациента перед неделей 18, число действительных процедур афереза (от недели 7 до недели 18) будет добавлено к расчетному числу оставшихся запланированных процедур лечения аферезом в соответствии с рандомизационной стратой для числителя.

Эффект от нормализации на запланированные процедуры лечения аферезом, в соответствии с установленным графиком для каждого пациента на исходном уровне, обеспечивает однородность по отношению к одной и той же шкале показателя для пациентов, входящих в исследование с различными графиками афереза (т.е. аферезом QW или Q2W).

Вторичные конечные точки эффективности: Для следующих липидных конечных точек, таких как процентные изменения от исходного уровня до конкретного визита после исходного уровня во время

лечения в периоде в условиях двойной анонимности, задают 2 отметки времени: до и после процедуры афереза. Для ключевых конечных точек эффективности, липидные параметры будут проанализированы, используя оценки, собранные до каждой процедуры афереза. В случае, когда аферез не проводится при визите, установленном протоколом, единственную лабораторную оценку, запланированную для сбора, применяют для обеих отметок времени (т.е. включая ключевые конечные точки эффективности). Значение исходного уровня определяют как последнее доступное значение для каждого из параметров до первой двойной слепой дозы исследуемого лекарственного средства.

Вторичные конечные точки настоящего исследования были следующими:

- (1) процентное изменение LDL-C от исходного уровня (до афереза) до недели 6, независимо от приверженности к лечению;
- (2) стандартизованный показатель лечения аферезом во время 4-недельного периода от недели 15 до недели 18, определенный аналогично как для первичных конечных точек эффективности;
- (3) процентное изменение ApoB от исходного уровня (до афереза) до недели 6, независимо от приверженности к лечению;
- (4) процентное изменение не-HDL-C от исходного уровня (до афереза) до недели 6, независимо от приверженности к лечению;
- (5) процентное изменение общего холестерина от исходного уровня (до афереза) до недели 6, независимо от приверженности к лечению;
- (6) процентное изменение ApoA-1 от исходного уровня (до афереза) до недели 6, независимо от приверженности к лечению;
- (7) доля пациентов с $\geq 30\%$ снижением LDL-C (до афереза) на неделе 6, независимо от приверженности к лечению;
- (8) доля пациентов с $\geq 50\%$ снижением LDL-C (до афереза) на неделе 6, независимо от приверженности к лечению;
- (9) процентное изменение LDL-C от исходного уровня (до афереза) до недели 18, независимо от приверженности к лечению;
- (10) процентное изменение ApoB от исходного уровня (до афереза) до недели 18, независимо от приверженности к лечению;
- (11) процентное изменение не-HDL-C от исходного уровня (до афереза) до недели 18, независимо от приверженности к лечению;
- (12) процентное изменение общего холестерина от исходного уровня (до афереза) до недели 18, независимо от приверженности к лечению;
- (13) процентное изменение ApoA-1 от исходного уровня (до афереза) до недели 18, независимо от приверженности к лечению;
- (14) доля пациентов с $\geq 30\%$ снижением LDL-C (до афереза) на неделе 18, независимо от приверженности к лечению;
- (15) доля пациентов с $\geq 50\%$ снижением LDL-C (до афереза) на неделе 18, независимо от приверженности к лечению;
- (16) изменение балльной оценки W-BQ22 от исходного уровня до недели 18, независимо от приверженности к лечению;
- (17) процентное изменение Lp(a) от исходного уровня (до афереза) до недели 6, независимо от приверженности к лечению;
- (18) процентное изменение HDL-C от исходного уровня (до афереза) до недели 6, независимо от приверженности к лечению;
- (19) процентное изменение уровней ТГ от исходного уровня (до афереза) до недели 6, независимо от приверженности к лечению;
- (20) процентное изменение Lp(a) от исходного уровня (до афереза) до недели 18, независимо от приверженности к лечению;
- (21) процентное изменение HDL-C от исходного уровня (до афереза) до недели 18, независимо от приверженности к лечению;
- (22) процентное изменение уровней ТГ от исходного уровня (до афереза) до недели 18, независимо от приверженности к лечению;
- (23) изменение отношения ApoB/ApoA-1 (до афереза) от исходного уровня до недели 6, независимо от приверженности к лечению;
- (24) изменение отношения ApoB/ApoA-1 (до афереза) от исходного уровня до недели 18, независимо от приверженности к лечению;
- (25) стандартизованные показатели процедур лечения аферезом во время 4-недельного периода от недели 7 до недели 10, определенные соответственно как для первичных конечных точек эффективности;
- (26) стандартизованные показатели процедур лечения аферезом во время 4-недельного периода от недели 11 до недели 14, определенные соответственно как для первичных конечных точек эффективности;

(27) комплексная оценка частоты афереза и значений LDL-C для 12-недельного периода от начала недели 7 до конца недели 18 (пациентов ранжировали в соответствии с их значениями LDL-C и показателем афереза); определяют средний ранг для всех пациентов и различие уровня LDL-C для каждого из прошедших лечение пациентов или показатель афереза из среднего ранга для этой переменной выражают в виде процентной доли; процентное различие для 2 переменных на основании данных для каждого пациента, добавляют для предоставления процентного различия от суммы факторов. При объединении и анализе для группы лечения, полученное в результате число будет указывать низкое значение LDL-C и/или уменьшенный показатель афереза);

(28) доля пациентов, достигших уровней LDL-C <200 мг/дл, <130 мг/дл, <100 мг/дл и <70 мг/дл до афереза на неделе 6, независимо от приверженности к лечению;

(29) доля пациентов, достигших уровней LDL-C <200 мг/дл, <130 мг/дл, <100 мг/дл, и <70 мг/дл до афереза на неделе 18, независимо от приверженности к лечению;

(30) исходные значения, а также процентное и абсолютное изменение LDL-C и других липидов от исходного уровня до обеих отметок времени каждого визита, независимо от приверженности к лечению, при лечении в периоде в условиях двойной анонимности;

(31) исходные значения, а также процентное и абсолютное изменение LDL-C и других липидов от исходного уровня до каждого визита, независимо от приверженности к лечению, при лечении в периоде с открытым режимом;

(32) параметры безопасности (АЕ [включающие подтвержденные сердечно-сосудистые явления], лабораторные данные, основные физиологические показатели и ЭКГ), оцениваемые на протяжении всего исследования.

Другие конечные точки:

(1) антитела против алирокумаб, оцениваемые на протяжении всего исследования;

(2) процентное изменение высокочувствительного С-реактивного белка (hs-CRP) и HbA1c от исходного уровня до недель 18 и 6;

(3) концентрации общего алирокумаб в сыворотке до и после афереза;

(4) уровень свободной и общей PCSK9 до и после афереза.

Процедуры исследования.

Все лабораторные образцы собирали до введения дозы исследуемого лекарственного средства. Образцы крови собирали от пациентов натощак, если возможно (например, в течение (по меньшей мере 10 ч голодания), только вода) для всех клинических визитов для получения липидограмм. Голодание являлось хотя и предпочтительным, но необязательным условием для образцов для липидограмм. Потребление алкоголя и курение в интервале 48 ч или интенсивные физические упражнения в интервале 24 ч, предшествующие отбору образцов крови, не разрешались.

Общий-С, HDL-С, TG, ApoB, ApoA-1 и Lp(a) непосредственно измеряли в центральной лаборатории. LDL-С рассчитывали, используя формулу Фридевальда. Если значения ТГ превышали 400 мг/дл (4,52 ммоль/л), тогда в центральной лаборатории автоматически измеряли (посредством бета-метода количественной оценки) LDL-С вместо его расчета. Не-HDL-С рассчитывали посредством вычитания HDL-С из общего-С. Вычисляли отношение ApoB/ApoA-1.

Липидограмма (натощак): Образцы крови для липидограммы (общий-С, ТГ, HDL-С и рассчитанный LDL-С) собирали после по меньшей мере 10-часового периода голодания в заранее установленные моменты времени.

Специальная липидограмма (Натощак): Образцы крови для специальной липидограммы (ApoB, ApoA-1 и Lp[a]) собирали после по меньшей мере 10-часового периода голодания в заранее установленные моменты времени.

Анкета самочувствия пациента: W-BQ22 применяли для оценки эффекта гиперхолестеринемии и лечения на самочувствие в установленные моменты времени.

Артериальное давление и частота сердечных сокращений: Артериальное давление и частоту сердечных сокращений оценивали в заранее установленные моменты времени. Артериальное давление предпочтительно измеряли в положении сидя в стандартизованных условиях, приблизительно в одно и то же время дня, на одной и той же руке, с использованием одного и того же прибора (после комфортного отдыха пациента в положении сидя в течение по меньшей мере 5 мин). При первом визите скрининга, артериальное давление измеряли на обеих руках. Руку с наивысшим диастолическим давлением определяли при этом визите, и артериальное давление измеряли на этой руке на протяжении всего исследования. Это наивысшее значение записывали в электронной индивидуальной регистрационной карте (eCRF). Частоту сердечных сокращений измеряли во время измерения артериального давления.

Врачебный осмотр: тщательный и полный врачебный осмотр проводили в заранее установленные моменты времени.

Масса тела и рост: значение массы тела получали для пациента, одетого в нижнюю одежду или очень легкую одежду и без обуви и с пустым мочевым пузырем. Одни и те же весы предпочтительно использовали на протяжении всего исследования. Было рекомендовано, если возможно, применение калиброванных весов с отсчетной шкалой.

Электрокардиограмма: электрокардиограммы снимали до отбора крови во время визитов, при которых требовалось взятие крови. Стандартную ЭКГ с 12-отведениями проводили в заранее установленные моменты времени. ЭКГ с 12-отведениями проводили после по меньшей мере 10-минутного отдыха и в положении лежа на спине. Электроды устанавливали на том же месте, настолько, насколько возможно, для каждой записи ЭКГ на протяжении всего исследования. ЭКГ интерпретировалась на месте исследователем. Любые новые и/или клинически значимые изменения параметров ЭКГ немедленно перепроверяли для подтверждения перед принятием какого-либо решения для данного пациента. Любую клинически значимую аномалию документально подтверждали как АЕ/SAE, с учетом конкретной ситуации. Каждую запись анализировали в сравнении с записью, зарегистрированной во время скрининга. Все ЭКГ-записи сохраняли в виде первичных данных. Частоту сердечных сокращений регистрировали по желудочковому ритму, и интервалы PR, QRS, RR и QT подлежали регистрации.

Лабораторное тестирование: Все лабораторные образцы (включая образцы ФК и ADA) собирали после проведения оценок и перед введением дозы исследуемого лекарственного средства во время визитов, которые соответствовали дню дозирования.

Подтверждение сердечно-сосудистых явлений.

Подтвержденные сердечно-сосудистые явления включали все сердечно-сосудистые АЕ, положительно подтвержденные. Категории подтверждения были следующими:

- (1) смерть от CHD;
- (2) нефатальный MI;
- (3) фатальный и нефатальный ишемический инсульт;
- (4) нестабильная стенокардия, требующая госпитализации;
- (5) хроническая сердечная недостаточность, требующая госпитализации;
- (6) направляемая ишемией процедура коронарной реваскуляризации (PCI, CABG).

Статистический анализ.

По оценочным данным, объем выборки из 63 пациентов (алирокумаб 42: плацебо 21) мог бы иметь по меньшей мере 85% статистическую мощность исследования для установления 33% различия средних показателей афереза с использованием двустороннего уровня значимости и допуском стандартного отклонения, равного 40%.

Популяция для анализа первичной эффективности представляла собой первичную выборку всех рандомизированных пациентов согласно назначенному лечению (ИТТ-популяцию), определенную как все рандомизированные пациенты. Популяция для анализа вторичной эффективности была основана на рандомизированных пациентах, которые имели по меньшей мере одно до афереза рассчитанное значение LDL-C перед первой дозой исследуемого лекарственного средства (или до рандомизации, если пациент не получал какое-либо исследуемое лекарственное средство), и по меньшей мере одно рассчитанное значение LDL-C в одном из окон анализа до афереза вплоть до недели 6. Статистический анализ проводили, когда последний пациент завершал все оценки эффективности на неделе 18. Данные LDL-C анализировали апостериорно, используя формулу Круна для оценки интервала средних значений LDL-C в недели 6-18 (после потенциального отказа от терапии с аферезом).

Стандартизованный показатель процедур лечения аферезом анализировали по показателю лечения, полученному во время 12-недельного периода (от недели 7 до недели 18), разделенному на число запланированных процедур лечения (6 для Q2W и 12 для еженедельных), используя модель ранжированного анализа ковариаций (ANCOVA). Стандартизованный показатель афереза мог находиться в интервале от 0 до 1, причем 0 указывает на то, что пациент пропускал все запланированные процедуры лечения аферезом между неделями 7 и неделями 18, а 1 указывает на то, что пациент получал все запланированные процедуры лечения. Показатель 0,75 показывал, что пациент получал 75% запланированных процедур лечения аферезом (и пропустил 25% запланированных процедур лечения). Исключения пациентов из исследования учитывали согласно предварительно определенным критериям. Среднее различие лечения определяли, используя оценку Ходжеса-Лемана и 95% доверительные интервалы (CI), используя доверительный интервал распределения Мозеса.

Для контроля ошибок типа I применяли иерархический дедуктивный подход. Так как анализ первичных конечных точек был достоверным на 5% альфа-уровне, ключевые вторичные конечные точки эффективности тестировали последовательно.

Результаты.

Характеристики исходного уровня.

Характеристики исходного уровня пациентов, включенных в исследование, обобщены в табл. 1-4.

Таблица 1. Характеристики пациентов на исходном уровне

Характеристика	Плацебо (N=21)	Алирокумаб 150 мг Q2W (N=41)	Все (N=62)
Возраст			
Средний (SD)	57,0 (10,5)	59,5 (9,2)	58,7 (9,7)
Мин: Макс	27: 73	41: 79	27: 79
Возрастная группа (годы) [n(%)]			
<65	16 (76,2%)	25 (61,0%)	41 (66,1%)
>=65	5 (23,8%)	16 (39,0%)	21 (33,9%)
Пол [n(%)]			
Мужской	10 (47,6%)	26 (63,4%)	36 (58,1%)
Женский	11 (52,4%)	15 (36,6%)	26 (41,9%)
Раса [n(%)]			
Белая	21 (100%)	39 (95,1%)	60 (96,8%)
Черная или Афроамериканская	0	2 (4,9%)	2 (3,2%)
Азиатская	0	0	0
Другие, смешанные	0	0	0
Страна [n(%)]			
Германия	10 (47,6%)	20 (48,8%)	30 (48,4%)
США	11 (52,4%)	21 (51,2%)	32 (51,6%)
Масса (кг)			
Средняя (SD)	86,9 (21,3)	90,0 (16,1)	88,9 (17,9)
Мин: Макс	56: 124	60: 124	56: 124
ВМІ группа (кг/м²) [n(%)]			
>=30	8 (38,1%)	23 (56,1%)	31 (50%)

Таблица 2. LMT исходного уровня при рандомизации

LMT исходного уровня	Плацебо (N=21)	Алирокумаб 150 мг Q2W (N=41)	Все (N=62)
Принимающие статины	13 (61,9%)	21 (51,2%)	34 (54,8%)
Принимающие максимальную ежедневную дозу статинов*	8 (38,1%)	11 (26,8%)	19 (30,6%)
Любая LMT, отличная от статинов	16 (76,2%)	26 (63,4%)	42 (67,7%)

* причины для пациентов, не принимающих статины или максимальную ежедневную дозу статинов: мышечные симптомы, увеличенная СРК, повышенные LFT, сопутствующие лекарственные препараты, преклонный возраст, низкий ВМІ, нарушения гомеостаза глюкозы, региональная практика, потенциал для когнитивного нарушения.

Таблица 3. История проведения лечения с аферезом

	Плацебо (N=21)	Алирокумаб 150 мг Q2W (N=41)	All (N=62)
Частота, при которой субъекту проводят аферез			
QW	9 (42,9%)	18 (43,9%)	27 (43,5%)
Q2W	12 (57,1%)	23 (56,1%)	35 (56,5%)
Время от первого известного проведения лечения аферезом (годы)			
Среднее (SD)	8,32 (8,11)	7,22 (7,60)	7,59 (7,73)
Медианное	5,32	4,54	4,89
Мин: Макс	0,5: 27,3	0,5: 32,9	0,5: 32,9

Таблица 4. Параметры липидов на исходном уровне

Липидный Параметр	Плацебо (N=21)	Алирокумаб 150 мг Q2W (N=41)	Все (N=62)
Рассчитанный LDL-C (мг/дл)			
Средний (SD)	191,6 (68,9)	175,1 (54,6)	180,7 (59,7)
Медианный	180,0	176,0	179,5
Q1: Q3	140,0: 240,0	129,0: 219,0	133,0: 227,0
Мин: Макс	81: 316	53: 275	53: 316
Не-HDL-C (мг/дл)			
Средний (SD)	224,5 (68,0)	210,3 (62,8)	215,1 (64,4)
Мин: Макс	90: 313	56: 265	56: 313
Общий-C (мг/дл)			
Средний (SD)	272,3 (73,6)	256,9 (60,6)	262,1 (65,1)
Мин: Макс	147: 399	140: 377	140: 399
HDL-C (мг/дл)			
Средний (SD)	47,8 (17,3)	46,6 (16,2)	47,0 (16,4)
Мин: Макс	24: 98	24: 108	24: 108
ТГ (мг/дл)			
Средний (SD)	164,4 (61,6)	176,0 (87,2)	172,1 (79,0)
Мин: Макс	81: 308	59: 393	59: 393
Липопротеин- (а) (мг/дл)			
Средний (SD)	45,7 (49,5)	43,0 (54,5)	43,9 (52,4)
Мин: Макс	7: 202	1,5: 285	21,5: 285

Семьдесят шесть пациентов с heFH, которым регулярно проводился еженедельно или Q2W аферез липопротеинов дали согласие участвовать и были подвергнуты скринингу. Как обобщено в табл. 1-4, всего 62 пациента (возраст: средний±SD возраст, 58,7±9,7 лет) были рандомизированы. 58,1% из рандомизированных пациентов являлись мужчинами. При визите скрининга, 28 пациентов не получали никаких статинов по причине переносимости, а 34 пациента указали на ежедневный прием статинов, причем 19 из них принимали максимальную ежедневную дозу. Все пациенты имели атеросклеротическое заболевание (коронарное и/или цереброваскулярное и/или периферическое) и 56,5% имели семейный анамнез коронарной болезни сердца. В среднем, пациентам проводили регулярный аферез липопротеинов в

течение (среднее±SD) 7,6±7,7 лет; медианное (Мин:Макс): 4,9 (0,5:32,9) лет. Частота афереза составляла Q2W (56,5%) и QW (43,5%). 16,1% пациентов имели диабет. 1,6% пациентов имели хроническую болезнь почек. Средний LDL-C исходного уровня составлял 4,7 ммоль/л (180,7 мг/дл); медианный (Мин:Макс): 4,7 (1,4:8,2) ммоль/л [179,5 (53,0:316,0) мг/дл]. Средний Lp(a) исходного уровня составлял 43,9 мг/дл (медианный [Мин:Макс]: 19,0 [1,5:285,0] мг/дл).

Шестьдесят пациентов прошли 6-недельный период лечения в условиях двойной анонимности (40 [97,6%] в группе с алирокумаб и 20 [95,2%] в группе с плацебо) (т.е. когда показатель афереза был определен по установленному графику пациента), и 57 прошли 18-недельный период лечения в условиях двойной анонимности (37 [90,2%] и 20 [95,2%], соответственно), когда график проведения афереза определяли по прежде достигнутому значению LDL-C. Из 5 (8,1%) пациентов, которые преждевременно прервали лечение в рамках исследования, 1 (4,8%) принимал плацебо (удален вследствие неблагоприятных явлений) и 4 (9,8%) получали алирокумаб (2 были удалены по причине неблагоприятных явлений и 1 из-за плохого соблюдения инструкций, 1 пациент не представил согласия).

Средний±стандартное отклонение (SD) возраст популяции составлял 58,7±9,7 лет, 36 (58,1%) пациентов являлись мужчинами, и 60 (96,8%) принадлежали к белой расе. Медианная (минимальная, максимальная) продолжительность процедур афереза перед вхождением в исследование составляла 4,9 (0,5, 32,9) лет.

Характеристики исходного уровня были уравновешены между группами лечения. Средний рассчитанный LDL-C исходного уровня (при вхождении в исследование) составлял 4,5±1,4 ммоль/л (175,1 мг/дл) в группе с алирокумаб и 5,0±1,8 ммоль/л (191,6 мг/дл) в группе с плацебо (P=0,35). Двадцать семь (43,5%) пациентов следовали еженедельному графику проведения афереза на исходном уровне, и 35 (56,5%) пациентов следовали графику Q2W. Среднее значение LDL-C у пациентов, которым проводили еженедельный аферез, составляло 3,9±1,3 ммоль/л (151,3±51,3 мг/дл) в сравнении с 5,3±1,4 ммоль/л (204,9±55,7 мг/дл) у пациентов, которым проводили Q2W аферез. Тридцать восемь (61,3%) пациентов имели нормальные уровни липопротеина (а) исходного уровня (<30 мг/дл), и 24 (38,7%) имели повышенные уровни. Тридцать четыре (54,8%) пациента принимали статин при скрининге, 19 (55,9%) из которых получали максимальную ежедневную дозу. Значения LDL-C исходного уровня составляли 4,0±1,4 ммоль/л (155,0±54,6 мг/дл) среди получавших лечение статинами пациентов в сравнении с 5,4±1,4 ммоль/л (208,0±53,2 мг/дл) у пациентов, не принимающих статины. Тридцать пациентов (48,4%) были из Германии и 32 (51,6%) из Соединенных Штатов.

Средняя±SD продолжительность воздействия инъекций составляла 17,4±2,3 недели (8,6±1,3 инъекций) в группе с алирокумаб и 17,5±3,1 недели (8,4±1,7 инъекций) в группе с плацебо.

Результаты эффективности.

Результаты эффективности обобщены в табл. 5-8.

Табл. 5 показывает стандартизованный показатель афереза от недели 7 до недели 18.

Таблица 5. Анализ первичной эффективности: стандартизованный показатель процедур лечения аферезом от недели 7 до недели 18 (ITT)

Стандартизованный показатель процедур лечения аферезом от недели 7 до недели 18	Плацебо (N=21)	Алирокумаб 150 мг Q2W (N=41)
Средний (SD)	0,806 (0,191)	0,128 (0,242)
Медианный	0,833	0,000
Мин:Макс	0,42:1,00	0,00:1,00
Оценка Ходжеса - Лемана медианного различия в лечении		0,750
95% свободный CI распределения Мозеса		(0,667-0,833)
p-значение в сравн. с плацебо		<,0001

Только при обоснованном пропуске лечения аферезом на месте проведения лечения значение LDL-C считалось случаем "аферез не проводили". Пропущенная информация по лечению аферезом (по любой причине) от недели 7 до недели 18 считалась результатом лечения аферезом "проводившегося" при визите. Стандартизованный показатель процедур лечения аферезом определяют как: Число действительных процедур лечения аферезом/запланированные процедуры лечения аферезом (6 для Q2W или 12 для QW).

Таблица 6. Стандартизованный показатель процедур лечения аферезом от недели 7 до недели 18 (ITT)

Стандартизованный показатель процедур лечения аферезом	Плацебо (N=21)	Алирокумаб 150 мг Q2W (N=41)
0	0	26 (63,4%)
> 0 и ≤ 0,25	0	7 (17,1%)
> 0,25 и ≤ 0,5	3 (14,3%)	5 (12,2%)
> 0,5 и ≤ 0,75	5 (23,8%)	1 (2,4%)
> 0,75 и < 1	7 (33,3%)	1 (2,4%)
1	6 (28,6%)	1 (2,4%)

Только при обоснованном пропуске лечения аферезом на месте проведения лечения значение LDL-C считалось случаем "аферез не проводили". Пропущенная информация по лечению аферезом (по любой причине) от недели 7 до недели 18 считалась результатом лечения аферезом "проводившегося" при визите. Два пациента (1 с плацебо и 1 с алирокумаб) прекратили лечебные процедуры в рамках исследования до недели 6, и стандартизованные показатели афереза вводили как 1.

Первичные конечные точки эффективности достигали статистически значимого благоприятного эффекта в пользу пациентов, получавших лечение алирокумаб, с оценкой Ходжеса-Лемана медианного различия в лечении в сравнении с плацебо равной 0,75 (95% доверительный интервал: 0,67-0,83).

Следовательно, пациенты, получавшие лечение алирокумаб, имели 0,75 (75%) дополнительного снижения стандартизованного показателя процедур лечения аферезом в сравнении с получавшими плацебо пациентами ($P < 0,0001$). Медианное различие в лечении для стандартизованного показателя процедур лечения аферезом от недели 7 до недели 18, когда результат лечения аферезом определяли по ранее достигнутой концентрации LDL-C, составлял 0,75 (95% CI 0,58-0,92) для пациентов, которым проводили аферез еженедельно, и 0,67 (95% CI 0,50-1,00) для пациентов с графиком Q2W, в пользу алирокумаб.

Медианное различие в лечении для стандартизованного показателя процедур лечения аферезом в течение 4-недельного периода (неделя 15 до недели 18) составлял 0,50 (95% CI от 0,50 до 1,00; $P < 0,0001$) в пользу алирокумаб, указывая на 50% снижение стандартизованного показателя процедур лечения аферезом в сравнении с плацебо.

Как показано в табл. 5, средний показатель процедур лечения аферезом у пациентов, получавших лечение алирокумаб, был равен 0,128, в то время как средний показатель процедур лечения аферезом в группе с плацебо составлял 0,806. Графическое представление процентного снижения показателя процедур лечения аферезом для индивидуальных пациентов, получавших лечение алирокумаб, в сравнении с индивидуальными пациентами в группе с плацебо в течение 12-недельного периода показано на фиг. 2. Во время этого периода, 63,4% пациентов, получавших алирокумаб, не проводились процедуры афереза, и 92,7% избежали, по меньшей мере, половины процедур. Это означает, что, 26 пациентов в группе лечения алирокумаб достигали 10 0% снижения показателя процедур лечения аферезом. Напротив, ни один из пациентов в группе с плацебо не достиг 100% снижения показателя процедур лечения аферезом. Эти результаты также отражены в табл. 6 и на фиг. 3-6, иллюстрирующих показатель процедур лечения аферезом для пациентов в группах с плацебо и лечения алирокумаб от недели 7 до недели 18 исследования. Результаты показывают, что для пациентов, у которых алирокумаб добавляли к их существующему режиму лечению, была возможность значительно снизить частоту их стандартизованной терапии с аферезом в течение 12 недель на 75% по сравнению с плацебо ($P < 0,0001$).

Табл. 7 и фиг. 7 и 8 показывают эффекты от лечения алирокумаб в сравнении с плацебо в связи с изменениями сывороточных уровней LDL-C в течение прохождения исследования. В целом, пациенты, получавшие лечение алирокумаб, проявляли среднее снижение LDL-C от исходного уровня свыше 50% на неделе 6, в то время как пациенты в группе с плацебо не проявляли какой-либо значительной степени снижения LDL-C.

Таблица 7. Анализ процентного изменения LDL-C от исходного уровня на неделе 6 (до афереза): MMRM - ИТТ

Процентное изменение от исходного уровня рассчитанного холестерина LDL	Плацебо (N=21)	Алирокумаб 150 мг Q2W (N=41)
Исходный уровень (мг/дл)		
Средний (SD)	191,6 (68,9)	175,1 (54,6)
Медианный	180,0	176,0
Мин: Макс	81: 316	53: 275
Процентное изменение от исходного уровня на неделе 6 (%)		
Среднее LS (SE)	1,6 (3,1)	-53,7 (2,3)
Среднее различие LS (SE) в сравнении с плацебо		-55,3 (3,9)
95% CI		(-63,1 to -47,5)
р-значение в сравнении с плацебо		<,0001

Замечание: метод наименьших квадратов (LS) означает, что стандартные ошибки (SE) и р-значение взяты по результатам анализа методом MMRM (модель со смешанными эффектами с повторными измерениями). Модель включает фиксированные категориальные эффекты группы лечения, страту рандомизации как на IVRS, момент времени, лечение на момент времени и взаимосвязь со стратой на момент времени, а также непрерывные фиксированные ковариаты рассчитанных значений LDL-C исходного уровня и рассчитанных значений LDL-C исходного уровня при взаимосвязи с моментами времени. Моменты времени в модели включают временные отметки два раза в неделю от недели 2 (до афереза) до недели 18 (до афереза).

Ключевые вторичные результаты эффективности для пациентов, получавших плацебо, и пациентов, получавших лечение алирокумаб, обобщены в табл. 8.

Таблица 8. Анализ ключевых вторичных результатов эффективности

Конечные точки	Результат Плацебо	Результат Алирокумаб	Сравне ние	P- значение
Процентное изменение рассчитанного LDL-C от исходного уровня до недели 6 (До афереза)	LS средн.: 1,6%	LS средн.: -53,7%	Разл: -55,3%	< 0,0001
Показатель процедур лечения аферезом от недели 15 до недели 18	Медиан.: 1,000	Медиан.: 0,000	Разл*: 0,500	< 0,0001
Процентное изменение Apo B от исходного уровня до недели 6 (До афереза)	LS средн.: 1,2%	LS средн.: -42,8%	Разл: -44,0%	< 0,0001
Процентное изменение не-HDL-C от исходного уровня до недели 6 (До афереза)	LS средн.: 2,8%	LS средн.: -47,1%	Разл: -50,0%	< 0,0001
Процентное изменение Общего-C от исходного уровня до недели 6 (До афереза)	LS средн.: 3,1%	LS средн.: -36,4%	Разл: -39,4%	< 0,0001
Apo A-1 Процентное изменение от	LS средн.: 0,0%	LS средн.: 4,2%	Разл: 4,2%	0,3012

исходного уровня до недели 6 (До афереза)				
≥ 30% снижение LDL-С от исходного уровня до Недели 6 (До афереза)	Доля: 4,8%	LS средн.: 95,1%	Отн. рисков : 144,4	< 0,0001
≥ 50% снижение LDL-С от исходного уровня до Недели 6 (До афереза)	Доля: 0	LS средн.: 63,4%	Отн. рисков : 48,1	0,0006
Процентное изменение рассчитанного LDL-С от исходного уровня до Недели 18 (До афереза)	LS средн.: 3,9%	LS средн.: -42,5%	Разл: -46,4%	< 0,0001
Процентное изменение Apo В от исходного уровня до Недели 18 (До афереза)	LS средн.: 1,8%	LS средн.: -33,5%	Разл: -35,2%	< 0,0001
Процентное изменение не-HDL-С от исходного уровня до Недели 18 (До афереза)	LS средн.: 4,7%	LS средн.: -45,8%	Разл: -40,4%	< 0,0001
Процентное изменение Общего-С от исходного уровня до Недели 18 (До афереза)	LS средн.: 4,6%	LS средн.: -27,3%	Разл: -31,9%	< 0,0001
Процентное	LS средн.:	LS средн.:	Разл:	0,0404

изменение Apo A-1 от исходного уровня до Недели 18 (До афереза)	-0,7%	8,1%	8,8%	
≥ 30% снижение LDL-C от исходного уровня до Недели 18 (До афереза)	Доля: 0	LS средн.: 65,9%	Отн. рисков : 39,8	< 0,0001
≥ 50% снижение LDL-C от исходного уровня до Недели 18 (До афереза)	Доля: 0	LS средн.: 43,9%	Отн. рисков : 18,8	< 0,0001
W-BQ22 (Показатель самочувствия) Изменение от исходного уровня до Недели 18	LS средн.: -0,34	LS средн.: -0,86	Разл: -0,52	0,6887
Процентное изменение Lp(a) от исходного уровня до Недели 6 (До афереза)	LS средн.: -4,0%	LS средн.: -18,0%	Разл: -14,1%	0,0262
Процентное изменение HDL-C от исходного уровня до недели 6 (До афереза)	LS средн.: 4,0%	LS средн.: 9,2%	Разл: 5,2%	0,2168
Процентное изменение ТГ от исходного уровня до недели 6 (До афереза)	LS средн.: 3,0%	LS средн.: -12,9%	Разл: -15,8%	0,0204
Процентное изменение Lp(a) от исходного уровня до недели 18 (До афереза)	-0,9%	-5,0%	-4,1%	
Процентное изменение HDL-C от исходного уровня до недели 18 (До афереза)	LS средн.: 2,5%	LS средн.: 10,5%	Разл: 8,0%	0,2022
Процентное изменение ТГ от исходного уровня до недели 18 (До афереза)	LS средн.: 4,2%	LS средн.: -1,4%	Разл: -5,6%	0,5770

Среднее значение LDL-C до афереза уменьшалось от 4,5 ммоль/л (175 мг/дл) на исходном уровне до 2,3 ммоль/л (90 мг/дл) на неделе 6 в группе с алирокумаб; соответствующие данные для пациентов в

группе с плацебо составляли 5,0 ммоль/л (192 мг/дл) и 4,8 ммоль/л (185 мг/дл) (фиг. 2). LS средн. \pm SE (95% CI) процентное изменение LDL-C до афереза от исходного уровня на неделе 6 было равно $-53,7\pm 2,3$ (от $-58,2$ до $-49,2$) в группе с алирокумаб и $1,6\pm 3,1$ (от $-4,7$ до $7,9$) в группе с плацебо (LS средн. \pm SE процентное различие $-55,3\pm 3,9$, 95% CI $-63,1$ до $-47,5$; $P<0,0001$). К неделе 18, среднее значение LDL-C в группе с алирокумаб немного повышалось, до 2,9 ммоль/л (110 мг/дл), в сравнении с 4,9 ммоль/л (191 мг/дл) в группе с плацебо (LS средн. \pm SE процентное различие $-46,4\pm 7,9$, 95% CI $-62,3$ до $-30,5$; $P<0,0001$).

Перекрестная проверка достоверности, при сравнении значений LDL-C в месте проведения лечения со значениями из центральной лаборатории, показала, что оба измерения имели высокую степень корреляции (корреляция Пирсона 0,86).

Процентное изменение липопротеина (а) от исходного уровня до недели 18 составляло $-5,7\%$ для алирокумаб в сравнении с $-3,0\%$ для плацебо среди пациентов с нормальными значениями исходного уровня, и $4,9\%$ в сравнении с $7,6\%$, соответственно, у пациентов с повышенными значениями исходного уровня. Во время недель 7-18, когда лечение аферезом могло быть прекращено, лечение алирокумаб было ассоциировано с более низким значением \pm SD усредненного по времени значения LDL-C (используя формулу 18 Круна) в течение (потенциального) интервала афереза, равного $2,4\pm 1,3$ ммоль/л ($92,7\pm 50,2$ мг/дл) в сравнении с $3,8\pm 1,7$ ммоль/л ($146,7\pm 65,6$ мг/дл) для плацебо ($P<0,0001$).

При апостериорном анализе, усредненные по времени значения LDL-C у пациентов, получавшие лечение алирокумаб, были последовательно более низкими, чем эти значения у получавших плацебо пациентов.

Безопасность.

$75,6\%$ пациентов в группе с алирокумаб и $76,2\%$ пациентов в группе с плацебо сообщили о TEAE, ни одно из которых не было фатальным. Показатели серьезных нежелательных явлений ($9,8\%$ для алирокумаб и $9,5\%$ для плацебо) и событий, приводящих к прекращению лечения ($4,9$ и $4,8\%$, соответственно) также были сходными в обеих группах.

Три пациента ($7,3\%$) в группе с алирокумаб и имели два последовательных рассчитанных значения LDL-C до афереза $<0,7$ ммоль/л (25 мг/дл), и ни один пациент в группе с плацебо не имел таких значений. Двое из этих пациентов имели по меньшей мере одно нежелательное явление, один из которых имел несколько серьезных нежелательных явлений (пневмонию, острый инфаркт миокарда, острую дыхательную недостаточность, застойную сердечную недостаточность, сепсис и стеноз аортального клапана). Двадцать семь пациентов (23 [$56,1\%$], получавших алирокумаб, и 4 [$19,0\%$] получавших плацебо) имели два последовательных значения LDL-C $<0,7$ ммоль/л после афереза, из которых 15 ($65,2\%$) и 2 ($50,0\%$), соответственно, имели нежелательное явление. Ни одно из явлений не было серьезным, но один пациент ($4,3\%$) прекратил лечение с использованием алирокумаб.

Обобщенные результаты и выводы.

Настоящее исследование показывает, что пациенты, получавшие алирокумаб, проявляли сниженный показатель процедур лечения аферезом, и сниженное количество процедур лечения аферезом в течение исследования, в сравнении с пациентами, получавшими плацебо. В частности, лечение алирокумаб приводило к более высокому снижению показателя процедур лечения аферезом в сравнении с приемом плацебо, по медианной оценке, равной $0,75$ или 75% ($p<0,0001$).

Настоящее исследование также продемонстрировало, что $63,4\%$ пациентов, получавших лечение алирокумаб, аферез не проводили в сравнении с 0% у пациентов, получавших плацебо (то есть, ни один из пациентов в группе плацебо не смог полностью обойтись без процедур лечения аферезом, в то время как для $63,4\%$ пациентов в группе лечения алирокумаб было возможным исключить процедуру лечения аферезом наряду с последующим лечением алирокумаб). В дополнение, $92,7\%$ пациентов, получавших лечение алирокумаб, имели по меньшей мере 50% снижение частоты афереза в сравнении с $14,3\%$ для пациентов, получавших плацебо. Более того, алирокумаб снижал LDL-C на 55% (в сравнении с PBO) на неделе 6 от 175 до $89,5$ мг/дл. Значительные снижения apoB, не-HDL-C и TC также наблюдали у пациентов, получавших лечение алирокумаб. Лечение алирокумаб снижало стандартизованный показатель процедур лечения аферезом от недели 15 до недели 18.

С точки зрения безопасности, подкожное введение алирокумаб у пациентов с HeFH, которым проводится терапия с аферезом LDL один раз в 1 или 2 недели, как правило, было безопасным и хорошо переносилось. Число пациентов, сообщающих о TEAE в целом и AESI, было сравнимым в группах лечения.

Все пациенты в этом исследовании имели высокий риск сердечно-сосудистого заболевания и прежде получали LLT, включая статины. При скрининге, только $54,8\%$ пациентов принимали статины, $55,9\%$ из которых получали максимально переносимую дозу. Большая доля суммарной популяции сообщала о снижении дозы при лечении статинами в анамнезе вследствие проблем с переносимостью ($43,5\%$), и $62,9\%$ сообщали о смене различных статинов. Различные причины приводились по поводу отказа от приема статинов или отказа принимать их при максимальной ежедневной дозе, от мышечных симптомов до беспокойства по поводу побочных эффектов, и региональных практик/местной маркировки, указывая на то, что пациенты с heFH, получающие аферез, представляют разнообразную и трудноизлечимую популяцию с ограниченными терапевтическими вариантами.

Пациенты в США показали характеристики, отличающиеся от характеристик пациентов в Германии, с более высоким LDL-C исходного уровня, более высокой встречаемостью непереносимости статинов и менее частым режимом афереза. В США, аферез липопротеинов в случае heFH часто рассматривается как приемлемый только для тех пациентов, которые через 6 месяцев не имеют адекватного ответа на максимально переносимую лекарственную терапию и имеют повышенный LDL-C с добавлением других сердечнососудистых факторов риска. В Германии, где центры по проведению афереза являются более распространенными, аферез считается необходимым, при отсутствии в интервале 12 месяцев успешных результатов от диеты и LLT, и при более низком пороговом значении LDL-C, и еженедельный режим является предпочтительней аферезу Q2W. Кроме того, рекомендации по снижению LDL-C из Европы основаны на подходе с коррекцией до целевой величины с разделением пациентов на группы риска, в то время как в методических указаниях в США отстаивают подход с адаптацией по дозе. Учитывая подход, признанный в Европейских руководствах, при котором целевое значение LDL-C составляет <1,8 ммоль/л (70 мг/дл), немецкие пациенты, получающие алирокумаб, с LDL-C выше этого целевого значения все еще могли бы соответствовать критериям для афереза. Следовательно, LLT с алирокумаб может оказаться дополняющим аферез липопротеинов у пациентов с очень высоким LDL-C или пациентов, которые не могут соответствовать целевому значению LDL-C.

В заключение, в этом исследовании было достигнуто значительное снижение первичных конечных точки эффективности и продемонстрировано, что ингибиторы PCSK9, такие как алирокумаб являются эффективным терапевтическим вариантом для снижения или устранения потребности пациента в терапии с аферезом липопротеинов или для отсрочки требования таких терапий.

Настоящее изобретение не будет ограничиваться по объему конкретными вариантами осуществления, приведенными в данном описании. Безусловно, различные модификации изобретения в дополнение к описанным в настоящем документе, станут очевидными для специалистов в данной области из предшествующего описания и сопроводительных чертежей. Такие модификации подразумеваются как попадающие в пределы объема прилагаемой формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ устранения потребности пациента в терапии с аферезом липопротеинов или снижения частоты проведения терапии с аферезом липопротеинов, требуемой пациенту для достижения целевого уровня липопротеинов, где способ включает отбор пациента с гиперхолестеринемией, которому проводят или проводили лечение с использованием афереза липопротеинов с начальной (для предварительного лечения) частотой, и введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту, снижая посредством этого уровень по меньшей мере одного липопротеина в сыворотке пациента и устраняя потребность пациента в терапии с аферезом липопротеинов или снижая частоту проведения афереза липопротеинов, требуемую пациенту для достижения целевого уровня липопротеинов, где целевой уровень липопротеинов представляет собой сывороточный уровень LDL-C, равный менее 200 мг/дл, менее 130 мг/дл, менее 100 мг/дл или менее 70 мг/дл, где ингибитор PCSK9 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с PCSK9, где указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат определяющие комплементарность области (CDR) тяжелой и легкой цепи вариабельной области тяжелой цепи/вариабельной области легкой цепи (HCVR/LCVR) из пары аминокислотных последовательностей, содержащей SEQ ID NO:1/6.

2. Способ по п.1, где начальная (для предварительного лечения) частота афереза составляет один раз в неделю или один раз в две недели.

3. Способ по п.1 или 2, где частота афереза после введения одной или более доз ингибитора PCSK9 составляет один раз в три недели, один раз в четыре недели, один раз в пять недель или является менее частой, чем один раз в пять недель.

4. Способ по п.1 или 2, где после введения одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту более не требуется аферез для поддержания целевого уровня липопротеинов.

5. Способ по п.1, где терапию с аферезом липопротеинов выбирают из группы, состоящей из: каскадной фильтрации, иммуноадсорбции, индуцированного гепарином осаждения LDL, адсорбции LDL (сульфат декстрана) липосорбером, гемоперфузии LDL и гемоперфузии LDL (липосорбер D).

6. Способ по п.1, где пациенту, до или во время лечения с использованием одной или более доз ингибитора PCSK9, проводится аферез липопротеинов при стабильном графике при начальной (до лечения) частоте в течение по меньшей мере 2 недель до введения первой дозы ингибитора PCSK9.

7. Способ по п.1, где пациент получает стабильную липидмодифицирующую терапию (LMT) исходного уровня до введения одной или более доз ингибитора PCSK9.

8. Способ по п.1, где пациент получает стабильную липидмодифицирующую терапию исходного уровня (LMT), совпадающую по времени с введением одной или более доз ингибитора PCSK9.

9. Способ по п.7 или 8, где стабильная LMT исходного уровня является терапией с низкими, умеренными или высокими дозами статинов.

10. Способ по п.1, где липопротеин, который снижается в сыворотке пациента после введения од-

ной или более доз ингибитора PCSK9, представляет собой один или более липопротеинов, выбранных из группы, состоящей из LDL-C, ApoB, не-HDL-C, общего холестерина и Lp(a).

11. Способ по п.1, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с PCSK9, вводят пациенту при дозе около 75 мг с частотой один раз в две недели.

12. Способ по п.1, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с PCSK9, вводят пациенту при дозе около 150 мг с частотой один раз в две недели.

13. Способ по п.1, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с PCSK9, вводят пациенту при дозе около 300 мг с частотой один раз в четыре недели.

14. Способ по любому из пп.11-13, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой алирокумаб.

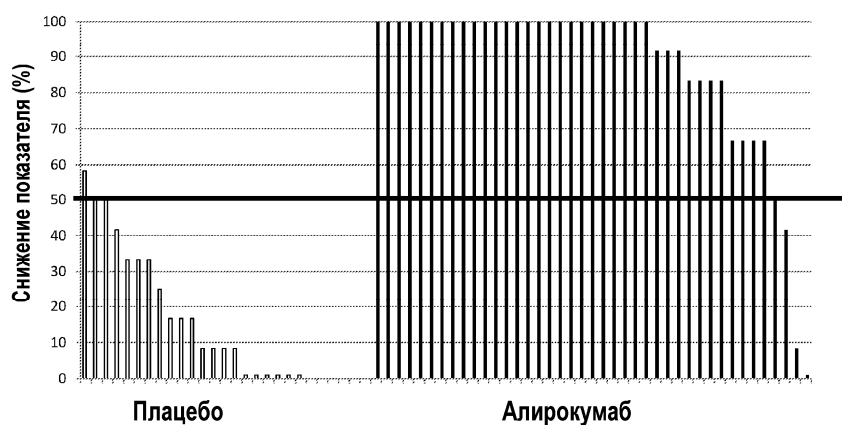
15. Способ по п.1, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотные последовательности CDR тяжелой и легкой цепи, имеющие SEQ ID NO:2, 3, 4, 7, 8 и 10.

16. Способ по п.15, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HCVR, имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:1, и LCVR, имеющую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:6.



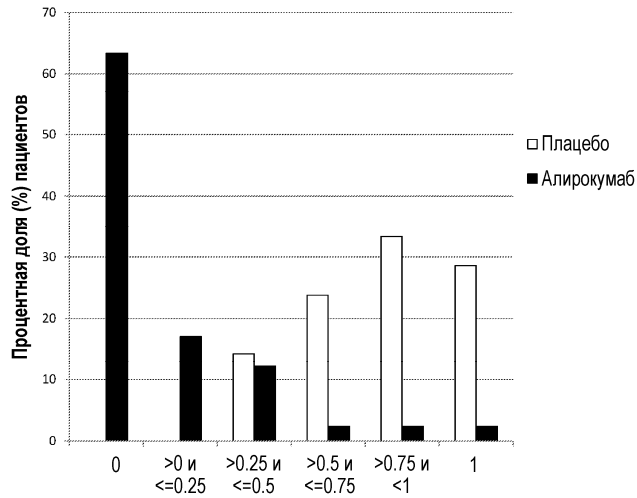
Фиг. 1

Каскадная диаграмма - Снижение показателя процедур лечения аферезом индивидуальных пациентов



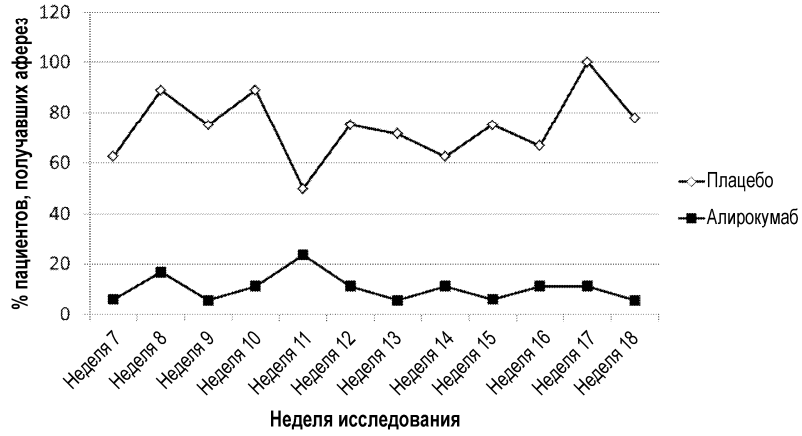
Фиг. 2

Стандартизованный показатель афереза от Недели 7 до Недели 18



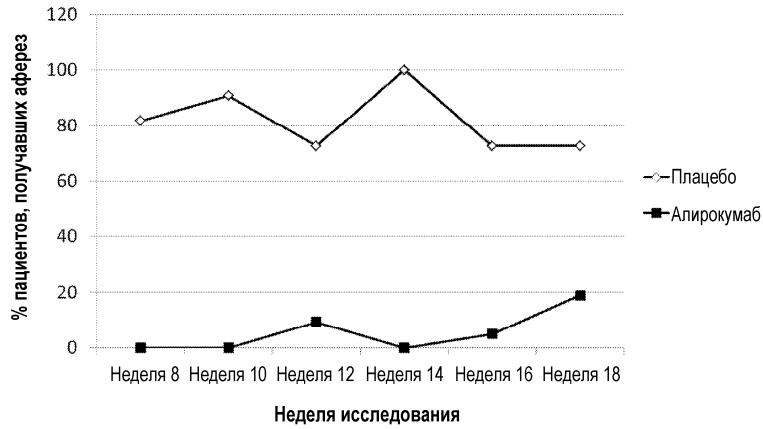
Фиг. 3

Показатель афереза
(Субпопуляция пациентов, получавших аферез QW)



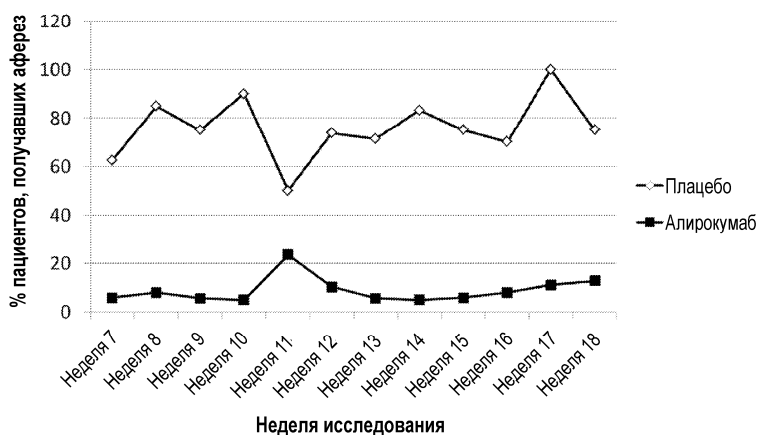
Фиг. 4

Показатель афереза
(Субпопуляция пациентов, получавших аферез Q2W)



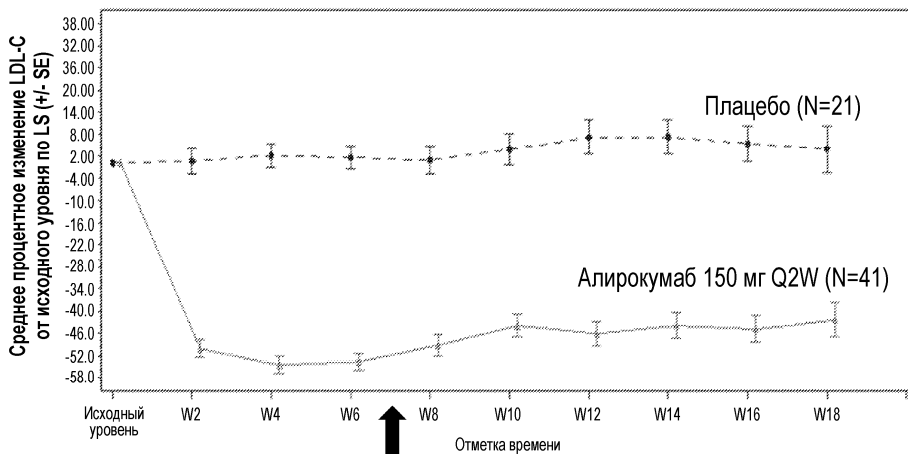
Фиг. 5

Показатель афереза
(все пациенты)

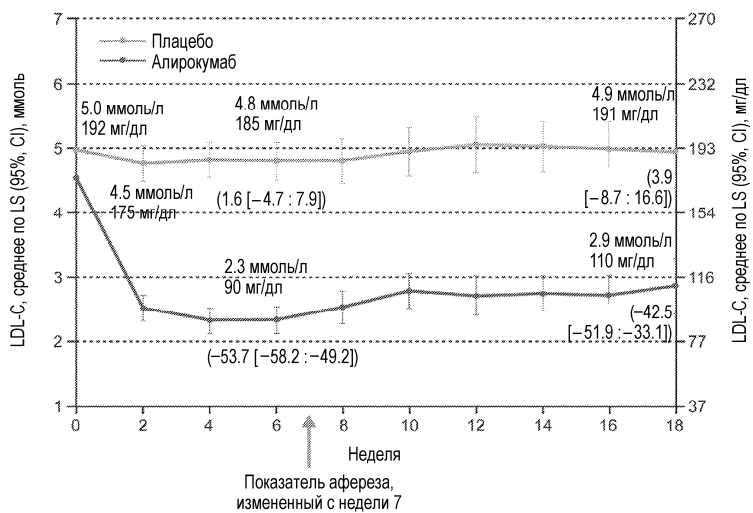


Фиг. 6

% изменение рассчитанного LDL-C от исходного уровня
MMRM - ИТТ



Аферез изменяется
Фиг. 7



Фиг. 8

