

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **039310**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.01.12

(51) Int. Cl. *C07K 16/40* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)

(21) Номер заявки
201691847

(22) Дата подачи заявки
2015.03.13

(54) СПОСОБЫ СНИЖЕНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОГО РИСКА

(31) **61/954,094; 62/025,400; 62/043,182;**
15305293.1

Anonymous: "NCT01507831 on 2013_06_27: ClinicalTrials.gov Archive", 27 June 2013 (2013-06-27), XP055189981, Retrieved from the Internet: URL: https://clinicaltrials.gov/archive/NCT01507831/2013_06_27 [retrieved on 2015-05-19], brief summary; brief title; arm/group

(32) **2014.03.17; 2014.07.16; 2014.08.28;**
2015.02.26

JAMES M. MCKENNEY ET AL.: "Safety and Efficacy of a Monoclonal Antibody to Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 Serine Protease, SAR236553/REGN727, in Patients With Primary Hypercholesterolemia Receiving Ongoing Stable Atorvastatin Therapy", JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY, vol. 59, no. 25, 1 June 2012 (2012-06-01), p. 2344-2353, XP055049859, ISSN: 0735-1097, DOI: 10.1016/j.jacc.2012.03.007, p. 2344, 2352, column 1

(33) **US; US; US; EP**

EVAN A. STEIN ET AL.: "Potential of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 Based Therapeutics", CURRENT ATHEROSCLEROSIS REPORTS, vol. 15, no. 3, 1 February 2013 (2013-02-01), p. 1-14, XP055139364, US ISSN: 1523-3804, DOI: 10.1007/s11883-013-0310-3, table 4

(43) **2017.01.30**

SWARTZ GREGORY G. ET AL.: "Effect of alirocumab, a monoclonal antibody to PCSK9, on long-term cardiovascular outcomes following acute coronary syndromes: Rationale and design of the ODYSSEY Outcomes trial", AMERICAN HEART JOURNAL, vol. 168, no. 5, November 2014 (2014-11), p. 682-689, XP002739740, the whole document

(86) **PCT/US2015/020564**

(87) **WO 2015/142668 2015.09.24**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
САНОФИ БАЙОТЕКНОЛОДЖИ
(FR); РИДЖЕНЕРОН
ФАРМАСЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

Бессак Лоранс, Анотэн Коринн (FR),
Порди Роберт К., Сасьела Уильям
Дж., Швартц Грегори Г. (US), Стег
Филипп Габриэль (FR)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(56) Anonymous: "NCT01663402 on 2014_03_11: ClinicalTrials.gov Archive", 11 March 2014 (2014-03-11), XP55189973, Retrieved from the Internet: URL: https://clinicaltrials.gov/archive/NCT01663402/2014_03_11 [retrieved on 2015-05-19], brief summary; brief title

(57) Настоящее изобретение предусматривает способы лечения заболеваний и нарушений, которые связаны с повышенными уровнями липидов и липопротеинов. Способы по настоящему изобретению предусматривают введение пациенту с высоким сердечно-сосудистым риском фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9. В определенных вариантах осуществления ингибитором PCSK9 является антитело к PCSK9, такое как иллюстративное антитело, обозначенное в данном документе как mAb316P или алирокумаб. Способы по настоящему изобретению применимы для лечения пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском, имеющих гиперхолестерolemию и повышенные уровни других атерогенных липопротеинов, которые резистентны к терапии посредством максимально переносимой дозы статинов. В частности, способы по настоящему изобретению применимы для снижения сердечно-сосудистого риска и понижения уровней атерогенных липопротеинов у пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском в течение 12 месяцев после приступа острого коронарного синдрома несмотря на терапию посредством максимально переносимой дозы статинов.

B1

039310

039310
B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к области терапевтических воздействий на заболевания и нарушения, которые связаны с повышенным уровнем липидов и липопротеинов. Более конкретно настоящее изобретение относится к применению ингибиторов PCSK9 для снижения сердечно-сосудистого риска и понижения уровней атерогенных липопротеинов у пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском после острого коронарного синдрома несмотря на терапию посредством максимально переносимой дозы статинов.

Предпосылки к созданию изобретения

Несмотря на современную терапию, включающую оперативную реваскуляризацию коронарных сосудов, двойную антитромбоцитарную терапию и интенсивное лечение статинами, сердечно-сосудистые события после острого коронарного синдрома (ACS) возникают с высокой частотой. По данным регистрационных исследований отмечают смертность от сердечно-сосудистых заболеваний вплоть до 13% за 5 лет, с подавляющим большинством встречающуюся после первой выписки из больницы. Пациенты с недавним острым коронарным синдромом (ACS) имеют очень высокий риск испытать повторные коронарные приступы в ближайшем будущем. У примерно 10% пациентов с ACS смерть по причине сердечно-сосудистой патологии, рецидив инфаркта миокарда или инсульт происходят в течение 1 г. На основании результатов крупномасштабных клинических исследований ранняя интенсивная терапия статинами стала формально подтвержденной в качестве рекомендации лечения для пациентов с ACS. Как эпидемиологические, так и фармакологические интервенционные исследования продемонстрировали сильную и линейную связь между уровнями холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) и сердечно-сосудистыми (CV) событиями. Однако многие пациенты с высоким риском CV не могут достичь таких уровней с существующими лекарственными средствами для снижения уровня липидов. Кроме того, значительное количество пациентов высокого риска даже не в состоянии достичь рекомендованных целевых уровней LDL-C и большинство CV событий на самом деле не предупреждены, что оставляет существенный "остаточный риск" для пациентов. Таким образом, дополнительные фармакологические терапии для предупреждения коронарного заболевания сердца (CHD) остаются существенно важными, в частности, для пациентов высокого риска с ACS.

Краткое описание настоящего изобретения

Настоящее изобретение предусматривает способы снижения сердечно-сосудистого риска и понижения уровней атерогенных липопротеинов у пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском после острого коронарного синдрома несмотря на терапию посредством максимально переносимой дозы статинов. В частности, способы по настоящему изобретению применимы для снижения сердечно-сосудистых риска и/или событий.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения предусматривается способ снижения сердечно-сосудистого риска у пациента с высоким сердечно-сосудистым риском в течение 12 месяцев после приступа острого коронарного синдрома (ACS), включающий введение пациенту одной или нескольких доз ингибитора пропротеиновой конвертазы субтилизин/кексинового типа 9 (PCSK9), где у пациента обнаруживается нарушенный контроль уровней атерогенных липопротеинов несмотря на стационарное лечение при помощи терапии посредством максимально переносимой дозы статинов в отсутствие ингибитора PCSK9.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения предусматривается способ снижения частоты возникновения сердечно-сосудистых событий у пациента с высоким сердечно-сосудистым риском в течение 12 месяцев после приступа острого коронарного синдрома (ACS), включающий введение пациенту одной или нескольких доз ингибитора пропротеиновой конвертазы субтилизин/кексинового типа 9 (PCSK9), где у пациента обнаруживается нарушенный контроль уровней атерогенных липопротеинов несмотря на стационарное лечение при помощи терапии посредством максимально переносимой дозы статинов в отсутствие ингибитора PCSK9.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения предусматривается способ снижения частоты возникновения сердечно-сосудистых событий у пациента с высоким сердечно-сосудистым риском после приступа острого коронарного синдрома (ACS), включающий введение пациенту одной или нескольких доз ингибитора пропротеиновой конвертазы субтилизин/кексинового типа 9 (PCSK9).

В одном варианте осуществления настоящего изобретения предусматривается способ снижения сердечно-сосудистого риска у пациента с высоким сердечно-сосудистым риском после приступа острого коронарного синдрома (ACS), включающий введение пациенту одной или нескольких доз ингибитора пропротеиновой конвертазы субтилизин/кексинового типа 9 (PCSK9).

Согласно одному аспекту способы по настоящему изобретению включают введение одной или нескольких доз ингибитора PCSK9 пациенту с высоким сердечно-сосудистым риском для снижения сердечно-сосудистого риска и понижения уровней атерогенных липопротеинов у пациента в течение 12 месяцев после приступа острого коронарного синдрома несмотря на терапию посредством максимально переносимой дозы статинов (т.е. повышенными уровнями липидов и липопротеинов, которые резистентны к терапии посредством максимально переносимой дозы статинов в отсутствие ингибитора PCSK9). Согласно определенным вариантам осуществления настоящего изобретения ингибитор PCSK9 вводят

пациенту с высоким сердечно-сосудистым риском в качестве дополнительной терапии к используемой пациентом терапии статинами.

Согласно другому аспекту способы по настоящему изобретению включают выбор пациента с высоким сердечно-сосудистым риском, по отношению к которому применяют схему лечения, предусматривающую ежедневную дозу статинов (например, терапию посредством максимально переносимой дозы статинов) и введение пациенту одной или нескольких доз ингибитора PCSK9 в комбинации с (т.е. "наряду с") терапией статинами.

Согласно одному аспекту настоящее изобретение предлагает способ снижения сердечно-сосудистого риска у пациента с высоким сердечно-сосудистым риском в течение 12 месяцев после приступа острого коронарного синдрома (ACS), включающий введение пациенту одной или нескольких доз ингибитора пропротеиновой конвертазы субтилизин/кексинового типа 9 (PCSK9), где у пациента обнаруживается нарушенный контроль уровней атерогенных липопротеинов несмотря на стационарное лечение при помощи терапии посредством максимально переносимой дозы статинов в отсутствие ингибитора PCSK9.

В некоторых аспектах термин "снижение сердечно-сосудистого риска" означает снижение времени по отношению к первому случаю смерти по причине коронарного заболевания сердца, острому инфаркту миокарда, госпитализации из-за нестабильной стенокардии или ишемическому инсульту.

В некоторых аспектах термин "приступ ACS" характеризуется

1) нестабильными симптомами ишемии миокарда, имеющими место в состоянии покоя или минимального напряжения в течение 72 ч внепланового стационарного лечения по причине предполагаемого или подтвержденного обструктивного заболевания коронарных артерий; и

2) по меньшей мере одним из следующего:

а) повышенными уровнями кардиальных биомаркеров, указывающими на острый инфаркт миокарда, или

б) ЭКГ-изменениями в состоянии покоя, указывающими на ишемию или инфаркт, наряду с дополнительным доказательством обструктивного заболевания коронарных артерий в результате нарушений визуализации регионарной перфузии или нарушений движения стенок, эпикардиального стеноза коронарных сосудов $\geq 70\%$, подтвержденного рентгеноангиографией, или необходимости реваскуляризации коронарных сосудов, связанной с приступом.

В некоторых аспектах ингибитор PCSK9 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с PCSK9. В некоторых аспектах антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат определяющие комплементарность участки (CDR) тяжелой и легкой цепей пары аминокислотных последовательностей вариабельного участка тяжелой цепи/вариабельного участка легкой цепи (HCVR/LCVR), выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1/6 и 11/15. В некоторых аспектах антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат аминокислотные последовательности CDR тяжелой и легкой цепей, имеющие SEQ ID NO: 12, 13, 14, 16, 17 и 18. В альтернативных аспектах антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 11 и LCVR с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 15. В некоторых аспектах антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат аминокислотные последовательности CDR тяжелой и легкой цепей, имеющие SEQ ID NO: 2, 3, 4, 7, 8 и 10. В альтернативных аспектах антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HCVR с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 1 и LCVR с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 6. В других аспектах антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связываются с тем же эпипротоном на PCSK9, что и антитело, содержащее аминокислотные последовательности CDR тяжелой и легкой цепей, имеющие SEQ ID NO: 12, 13, 14, 16, 17 и 18 или SEQ ID NO: 2, 3, 4, 7, 8 и 10. Еще в других аспектах антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конкурируют за связывание с PCSK9 с антителом, содержащим аминокислотные последовательности CDR тяжелой и легкой цепей, имеющие SEQ ID NO: 12, 13, 14, 16, 17 и 18 или SEQ ID NO: 2, 3, 4, 7, 8 и 10.

В некоторых аспектах антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с PCSK9, вводят пациенту в дозе приблизительно 75 мг с частотой один раз каждые 2 недели. В других аспектах дозу в приблизительно 75 мг продолжают вводить, если уровень LDL-C у пациента, измеренный после двух доз, составляет <50 мг/дл. Еще в других аспектах дозу в приблизительно 75 мг отменяют, если уровень LDL-C у пациента, измеренный после двух доз, остается на уровне ≥ 50 мг/дл, и антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с PCSK9, впоследствии вводят пациенту в дозе приблизительно 150 мг с частотой один раз каждые 2 недели. В дополнительных аспектах дозу в приблизительно 150 мг отменяют, если уровень LDL-C у пациента согласно любому из двух последующих измерений составляет <25 мг/дл, и антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с PCSK9, впоследствии вводят пациенту в дозе приблизительно 75 мг с частотой один раз каждые 2 недели.

В некоторых аспектах ингибитор PCSK9 вводят пациенту совместно с терапией посредством мак-

симально переносимой дозы статинов. В других аспектах терапия посредством максимально переносимой дозы статинов предусматривает аторвастатин в ежедневной дозе от приблизительно 40 мг до приблизительно 80 мг. Еще в других аспектах терапия посредством максимально переносимой дозы статинов предусматривает розувастатин в ежедневной дозе от приблизительно от 20 мг до приблизительно 40 мг.

В некоторых аспектах у пациента до или во время введения ингибитора PCSK9 обнаруживается нарушенный контроль уровней атерогенных липопротеинов, определенный как

- 1) уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) в сыворотке крови ≥ 70 мг/дл;
- 2) уровень холестерина, не относящегося к холестерину липопротеинов высокой плотности, ≥ 100 мг/дл; или
- 3) уровень аполипопротеина B ≥ 80 мг/дл.

В некоторых аспектах стационарное лечение представляет собой лечение на протяжении по меньшей мере 2 недель.

Другие варианты осуществления по настоящему изобретению будут очевидны из обзора последующего подробного описания.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 представлено графическое представление плана исследования ODYSSEY LONG TERM.

На фиг. 2 представлено графическое представление плана исследования для ODYSSEY LONG TERM. Беседы по телефону отмечены курсивом и продолжаются каждые 4 недели между визитами в исследовательский центр до окончания визитов в период лечения в двойном слепом исследовании.

На фиг. 3 представлен график, показывающий рассчитанное LS среднее значение (SE) уровня LDL-C для плацебо и алирокумаба в каждый момент времени в исследовании ODYSSEY LONG TERM вплоть до 52 недели. Значения, представленные на графике, представляют собой % изменение LS среднего значения от исходного значения до 24 недели и 52 недели.

На фиг. 4 представлен график оценок Каплана-Мейера для времени до первого установленного серьезного CV события для исследования ODYSSEY LONG TERM во время анализа с предварительно заданными параметрами.

На фиг. 5 представлен график, показывающий рассчитанное LS среднее значение (SE) уровней не-HDL-C, ApoB и Lp(a) для групп плацебо и алирокумаба на 24 неделю в исследовании ODYSSEY LONG TERM.

На фиг. 6 представлен график ретроспективного анализа подгруппы установленного MACE (конечная точка ODYSSEY OUTCOMES), показывающий оценки Каплана-Мейера для времени до первого положительно установленного CV события на протяжении периода TEAE (при завершении исследования).

На фиг. 7 представлен график ретроспективного анализа подгруппы установленного MACE (конечная точка ODYSSEY OUTCOMES), показывающий оценки Каплана-Мейера для времени до первого положительно установленного CV события на протяжении периода TEAE в пульсе фазы 3 плацебо-контролируемых исследований.

Подробное описание

Перед описанием настоящего изобретения необходимо понимать, что настоящее изобретение не ограничивается конкретными описанными способами и условиями экспериментов, поскольку такие способы и условия могут варьироваться. Также необходимо понимать, что терминология, используемая в данном документе, предназначена лишь для целей описания конкретных вариантов осуществления и не предполагает ограничительный характер, поскольку объем настоящего изобретения будет ограничиваться лишь прилагаемой формулой изобретения.

Если не определено иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют такое же значение, которое обычно понимается специалистом в области, к которой принадлежит настоящее изобретение. Используемый в данном документе термин "приблизительно" при использовании со ссылкой на конкретное описываемое слово значение означает, что значение может отличаться от описываемого значения не более чем на 1%. Например, используемое в данном документе выражение "приблизительно 100" включает 99 и 101 и все значения между ними (например, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4 и т.д.).

Хотя любые способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, которые описаны в данном документе, можно использовать при осуществлении на практике настоящего изобретения, ниже описаны предпочтительные способы и материалы. Все публикации, упомянутые в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

Гиперхолестеринемия и уровни других атерогенных липопротеинов, которые резистентны к терапии посредством максимально переносимой дозы статинов.

Настоящее изобретение в целом относится к способам и композициям для лечения пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском, которые характеризуются гиперхолестеринемией, которая резистентна к статинам, т.е. гиперхолестеринемией, резистентной к схеме лечения, предусматривающей ежедневную максимально переносимую дозу статинов. Используемое в данном документе выражение "рези-

стентный" в отношении гиперхолестеринемии означает, что концентрация холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) в сыворотке крови, общая концентрация холестерина и/или концентрация триглицеридов у пациента не снижаются до признанного, допустимого с медицинской точки зрения уровня (с учетом относительного риска возникновения у пациента коронарного заболевания сердца) после по меньшей мере 4-недельной схемы лечения, предусматривающей постоянную ежедневную дозу статина. Например, "пациент с гиперхолестеринемией, которая резистентна к статину" включает пациента или пациентов с концентрацией LDL-C в сыворотке крови, превышающей или равной приблизительно 70, 100, 130, 140 мг/дл или более (в зависимости от исходного риска возникновения у пациента заболевания сердца), после того как пациент следовал схеме с постоянными ежедневными дозами статинов в течение по меньшей мере 4 недель.

Согласно определенным вариантам осуществления у пациента с высоким сердечно-сосудистым риском, который поддается лечению способами по настоящему изобретению, имеется гиперхолестеринемия (например, концентрация LDL-C в сыворотке крови превышает или равна 70 мг/дл), несмотря на прием постоянной ежедневной дозы статина (с другой липид-корригирующей терапией или без нее) в течение по меньшей мере 4, 5, 6 недель или более. В определенных вариантах осуществления у пациента с высоким сердечно-сосудистым риском гиперхолестеринемия резистентна к терапии посредством максимально переносимой дозы статинов.

Настоящее изобретение также относится к способам и композициям для лечения пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском, которые характеризуются повышенными уровнями атерогенных липопротеинов, которые резистентны к статинам, т.е. повышенными уровнями атерогенных липопротеинов, резистентных к схеме лечения, предусматривающей ежедневную максимально переносимую дозу статина. Используемое в данном документе выражение "резистентный" в отношении уровней атерогенных липопротеинов означает, что концентрация холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) в сыворотке крови, холестерина, не относящегося к холестерину липопротеинов высокой плотности, и/или концентрация аполипопротеина В у пациента не снижаются до признанного, допустимого с медицинской точки зрения уровня (с учетом относительного риска возникновения у пациента коронарного заболевания сердца) после по меньшей мере 4-недельной схемы лечения, предусматривающей постоянную ежедневную дозу статина. Например, "пациент с повышенными уровнями атерогенных липопротеинов, которые резистентны к статину" включает пациента или пациентов с концентрацией LDL-C в сыворотке крови, превышающей или равной приблизительно 70, 100, 130, 140 мг/дл или более (в зависимости от исходного риска возникновения у пациента заболевания сердца), концентрацией холестерина, не относящегося к холестерину липопротеинов высокой плотности, превышающей или равной приблизительно 100 мг/дл, или концентрацией аполипопротеина В, превышающей или равной приблизительно 80 мг/дл, после того как пациент следовал схеме с постоянной ежедневной дозой статинов в течение по меньшей мере 4 недель.

Согласно определенным вариантам осуществления у пациента с высоким сердечно-сосудистым риском, который поддается лечению способами по настоящему изобретению, имеются повышенные уровни атерогенных липопротеинов (например, концентрация LDL-C в сыворотке крови превышает или равна 70 мг/дл) несмотря на прием постоянной ежедневной дозы статина (с другой липид-корригирующей терапией или без нее) в течение по меньшей мере 4, 5, 6 недель или более. В определенных вариантах осуществления у пациента с высоким сердечно-сосудистым риском повышенные уровни атерогенных липопротеинов резистентны к терапии посредством максимально переносимой дозы статинов.

Используемая в данном документе "терапия посредством максимально переносимой дозы статинов" означает схему лечения, предусматривающую введение ежедневной дозы статина, которая является максимально переносимой дозой для определенного пациента. "Максимально переносимая доза" означает наивысшую дозу статина, которую можно вводить пациенту без вызывания нежелательных побочных эффектов у пациента. Терапия посредством максимально переносимой дозы статинов включает без ограничения, например, 40-80 мг аторвастатина ежедневно или 20-40 мг розувастатина ежедневно.

Настоящее изобретение также включает способы лечения пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском, имеющих гиперхолестеролемию и повышенные уровни других атерогенных липопротеинов, которые резистентны к терапии посредством максимально переносимой дозы статинов, предусматривающие ежедневное введение других статинов, таких как церивастатин, питавастатин, флувастатин, ловастатин и правастатин.

Выбор пациентов.

Настоящее изобретение предлагает способы и композиции, применимые для лечения пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском, которые характеризуются гиперхолестеролемией и повышенными уровнями других атерогенных липопротеинов, которые резистентны к схеме лечения ежедневной максимально переносимой дозой статинов.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в качестве дополнения к рациону.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят для

снижения сердечно-сосудистых событий у пациентов с недавним острым коронарным синдромом.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят для снижения сердечно-сосудистого риска у пациентов с недавним острым коронарным синдромом.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент находятся либо в комбинации со статином, либо являются монотерапией, в том числе для пациентов, которые не могут переносить статины.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в виде подкожной инъекции в бедро, живот или плечо с использованием предварительно наполненной одноразовой шприц-ручки или предварительно наполненного одноразового шприца. Место инъекции можно чередовать с каждой инъекцией. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не следует вводить в области активной кожной болезни или повреждения, такого как солнечные ожоги, кожная сыпь, воспаление или кожные инфекции.

Пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском, которые поддаются лечению при помощи способов по настоящему изобретению, госпитализировали из-за ACS, определенного по нестабильным симптомам ишемии миокарда, имеющих место в состоянии покоя или минимального напряжения в течение 72 ч внепланового стационарного лечения по причине предполагаемого или подтвержденного обструктивного заболевания коронарных артерий. К тому же установленный приступ ACS требовал соответствия по меньшей мере одному из следующих критерии:

повышенные уровни кардиальных биомаркеров, указывающие на острый инфаркт миокарда, или

ЭКГ изменения в состоянии покоя, указывающие на ишемию или инфаркт, наряду с дополнительным доказательством обструктивного заболевания коронарных артерий в результате нарушений визуализации регионарной перфузии или нарушений движения стенок, эпикардиального стеноза коронарных сосудов $>70\%$, подтвержденного рентгеноангиографией, или необходимости реваскуляризации коронарных сосудов, связанной с приступом.

Установленные пациенты должны были демонстрировать нарушенный контроль уровней атерогенных липопротеинов, несмотря на стационарное (по меньшей мере 2 недели) лечение аторвастатином 40-80 мг ежедневно, розувастатином 20-40 мг ежедневно или максимально переносимой дозой одного из этих средств. Нарушенный контроль уровней атерогенных липопротеинов определяли по меньшей мере по одному из следующего: уровня LDL-C ≥ 70 мг/дл (1,81 ммоль/л), холестерина, не относящегося к холестерину липопротеинов высокой плотности (не-HDL-C) ≥ 100 мг/дл (2,59 ммоль/л), или аполипопротеина B ≥ 80 мг/дл (0,8 ммоль/л).

Согласно определенным вариантам осуществления пациент с высоким сердечно-сосудистым риском может быть выбран на основании наличия одного или нескольких дополнительных факторов риска, выбранных из группы, состоящей из возраста (например, старше 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или 80 лет), расовой принадлежности, национального происхождения, пола (мужчина или женщина), особенностей физических нагрузок (например, регулярно занимается, не занимается физическими упражнениями), других предшествующих нарушений (например, сахарного диабета II типа, высокого кровяного давления и т.д.) и текущего статуса приема медицинских препаратов (например, текущий прием бета-блокаторов, ниацина, эзетимиба, фибраторов, омега-3 жирных кислот, секвестрантов желчных кислот и т.д.).

Согласно настоящему изобретению пациенты с высоким сердечно-сосудистым риском могут быть выбраны на основании комбинации одного или нескольких из вышеупомянутых критериев выбора или терапевтических характеристик.

Введение ингибитора PCSK9 в качестве дополнительной терапии к терапии посредством максимально переносимой дозы статинов.

Настоящее изобретение включает способы, где пациенту с высоким сердечно-сосудистым риском, имеющему гиперхолестерolemию и повышенные уровни других атерогенных липопротеинов, которые резистентны к схеме лечения постоянной ежедневной максимально переносимой дозой статинов в отсутствие ингибитора PCSK9, вводят ингибитор PCSK9 согласно определенному дозированному количеству и определенной частоте дозирования и где ингибитор PCSK9 вводят пациенту в качестве дополнения к схеме с терапевтическими статинами. Например, согласно определенным вариантам осуществления если у пациента с высоким сердечно-сосудистым риском имеются гиперхолестеринемия и повышенные уровни других атерогенных липопротеинов, которые резистентны несмотря на схему с постоянной ежедневной максимально переносимой дозой терапевтических статинов, предусматривающей, например, 40-80 мг аторвастатина, то пациенту с высоким сердечно-сосудистым риском можно вводить ингибитор PCSK9 в определенном количестве и с определенным интервалом дозирования, при этом пациент продолжает следовать своей схеме лечения постоянной ежедневной дозой статинов.

Способы по настоящему изобретению включают дополнительные схемы лечения, в которых ингибитор PCSK9 вводят в качестве дополнительной терапии к той же схеме лечения постоянной ежедневной максимально переносимой дозой статинов (т.е. к тому же дозированному количеству статинов), на которой был пациент с высоким сердечно-сосудистым риском до получения ингибитора PCSK9. В других

вариантах осуществления ингибитор PCSK9 вводят в качестве дополнительной терапии к схеме лечения ежедневной максимально переносимой дозой статинов, предусматривающей статин в количестве, которое больше или меньше дозы статинов, которую пациент получал до получения ингибитора PCSK9. Например, после начала схемы лечения, предусматривающей ингибитор PCSK9, вводимый с определенной частотой дозирования и в определенном дозированном количестве, ежедневная доза статина, вводимая или назначаемая пациенту, может (а) оставаться той же самой, (б) повышаться или (с) снижаться (например, дозу повышают или дозу снижают) по сравнению с ежедневной дозой статинов, которую пациент с высоким сердечно-сосудистым риском принимал до начала схемы лечения ингибитором PCSK9 в зависимости от терапевтических потребностей пациента.

Терапевтическая эффективность.

Способы по настоящему изобретению приведут в результате к снижению в сыворотке крови уровней одного или нескольких липидных компонентов, выбранных из группы, состоящей из LDL-C, ApoB100, не-HDL-C, общего холестерина, VLDL-C, триглицеридов, Lp(a) и остаточного холестерина. Например, согласно определенным вариантам осуществления настоящего изобретения введение фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9, пациенту с высоким сердечно-сосудистым риском, имеющему гиперхолестерolemию или повышенные уровни других атерогенных липопротеинов, которые резистентны к схеме лечения постоянной ежедневной максимально переносимой дозой статинов (например, введение ингибитора PCSK9 наряду с терапией посредством максимально переносимой дозы статинов для пациента с высоким сердечно-сосудистым риском), приведет в результате к среднему снижению в процентах от исходного уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) в сыворотке крови по меньшей мере на приблизительно 25, 30, 40, 50, 60% или более;

среднему снижению в процентах от исходного уровня ApoB100 по меньшей мере на приблизительно 25, 30, 40, 50, 60% или более;

среднему снижению в процентах от исходного уровня не-HDL-C по меньшей мере на приблизительно 25, 30, 40, 50, 60% или более;

среднему снижению в процентах от исходного уровня общего холестерина по меньшей мере на приблизительно 10, 15, 20, 25, 30, 35% или более;

среднему снижению в процентах от исходного уровня VLDL-C по меньшей мере на приблизительно 5, 10, 15, 20, 25, 30% или более;

среднему снижению в процентах от исходного уровня триглицеридов по меньшей мере на приблизительно 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35% или более и/или

к среднему снижению в процентах от исходного уровня Lp(a) по меньшей мере на приблизительно 5, 10, 15, 20, 25% или более.

Ингибиторы PCSK9.

Способы по настоящему изобретению предусматривают введение пациенту с высоким сердечно-сосудистым риском терапевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9. Используемый в данном документе "ингибитор PCSK9" означает любое средство, которые связывается или взаимодействует с PCSK9 человека и ингибитирует нормальную биологическую функцию PCSK9 *in vitro* или *in vivo*. Неограничивающие примеры категорий ингибиторов PCSK9 включают низкомолекулярные антагонисты PCSK9, пептидные антагонисты PCSK9 (например, молекулы "пептид-ассоциированных антител"), а также антитела или антигенсвязывающие фрагменты антител, которые специфически связываются с PCSK9 человека.

Термин "пропротеиновая конвертаза субтилизин/кексинового типа 9 человека", или "PCSK9 человека", или "hPCSK9", используемый в данном документе, относится к PCSK9 с последовательностью нуклеиновой кислоты, представленной под SEQ ID NO: 197, и аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 198 или его биологически активному фрагменту.

Термин "антитело", используемый в данном документе, предназначен для обозначения молекул иммуноглобулинов, содержащих четыре полипептидные цепи, две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные между собой дисульфидными связями, а также их мультимеров (например, IgM). Каждая тяжелая цепь содержит вариабельный участок тяжелой цепи (в данном документе имеет аббревиатуру HCVR или VH) и константный участок тяжелой цепи. Константный участок тяжелой цепи содержит три домена: CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь содержит вариабельный участок легкой цепи (в данном документе имеет аббревиатуру LCVR или VL) и константный участок легкой цепи. Константный участок легкой цепи содержит один домен (CL1). Участки VH и VL могут быть дополнительно подразделены на участки гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность участками (CDR), чередующиеся с участками, которые более консервативны, называемыми каркасными участками (FR). Каждый VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от амино-конца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В различных вариантах осуществления настоящего изобретения FR антитела к PCSK9 (или его антигенсвязывающей части) могут быть идентичными последовательностям зародышевой линии человека или могут быть естественно или искусственно изменены. Аминокислотная консенсусная последовательность может быть определена на основании анализа "бок о бок" двух или больше CDR.

Термин "антитело", используемый в данном документе, также включает антигенсвязывающие фрагменты целых молекул антител. Термины "антигенсвязывающая часть" антитела, "антигенсвязывающий фрагмент" антитела и им подобные, используемые в данном документе, включают любой встречающийся в природе, получаемый ферментативным путем, синтетический или получаемый методиками генной инженерии полипептид или гликопротеин, специфически связывающийся с антигеном с образованием комплекса. Антигенсвязывающие фрагменты антитела могут быть получены, например, из целых молекул антител с помощью любых подходящих стандартных технологий, таких как протеолитическое расщепление или рекомбинантные технологии генной инженерии, включающих манипуляцию с ДНК, кодирующими вариабельные и необязательно константные домены антител, и ее экспрессию. Такая ДНК известна и/или легкодоступна, например, из коммерческих источников, библиотек ДНК (в том числе, например, библиотек "фаг-антитело") или ее можно синтезировать. ДНК можно секвенировать и с ней можно проводить химические манипуляции или манипуляции при помощи методик молекулярной биологии, например, для упорядочивания одного или нескольких вариабельных и/или константных доменов в подходящую конфигурацию или для введения кодонов, создания цистeinовых остатков, модификации, присоединения или удаления 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 распознавающие единицы, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гипервариабельный участок антитела (например, выделенный определяющий комплементарность участок (CDR), такой как пептид CDR3), или конформационно-ограниченный 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, тетратела, минитела, нанотела (например, моновалентные антитела, бивалентные антитела и т.д.), иммунофармацевтические препараты на основе модульного белка малого размера (SMIP) и вариабельные домены IgNAR акулы, также включены в выражение "антигенсвязывающий фрагмент", используемый в данном документе.

Антигенсвязывающий фрагмент антитела, как правило, содержит по меньшей мере один вариабельный домен. Вариабельный домен может быть любого размера или аминокислотного состава и будет, как правило, содержать по меньшей мере один CDR, который прилегает к или находится в рамке считывания с одной или несколькими каркасными последовательностями. В антигенсвязывающих фрагментах, имеющих домен VH, связанный с доменом VL, домены VH и VL могут располагаться относительно друг друга в любом подходящем порядке. Например, вариабельный участок может быть димерным и содержать димеры VH-VH, VH-VL или VL-VL. Альтернативно антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать мономерный домен VH или VL.

В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать по меньшей мере один вариабельный домен, ковалентно связанный по меньшей мере с одним константным доменом. Неограничивающие иллюстративные конфигурации вариабельных и константных доменов, которые можно найти в антигенсвязывающем фрагменте антитела по настоящему изобретению, включают (i) VH-CH1, (ii) VH-CH2, (iii) VH-CH3, (iv) VH-CH1-CH2, (v) VH-CH1-CH2-CH3, (vi) VH-CH2-CH3, (vii) VH-CL, (viii) VL-CH1, (ix) VL-CH2, (x) VL-CH3, (xi) VL-CH1-CH2, (xii) VL-CH1-CH2-CH3, (xiii) VL-CH2-CH3 и (xiv) VL-CL.

В любой конфигурации вариабельных и константных доменов, в том числе любых иллюстративных конфигурациях, изложенных выше, вариабельные и константные домены могут быть либо непосредственно связаны друг с другом, либо могут быть связаны при помощи целого или части шарнирного или линкерного участка. Шарнирный участок может состоять по меньшей мере из 2 (например, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или более) аминокислот, которые приводят к образованию гибкой или полугибкой связи между прилегающими вариабельными и/или константными доменами в одной молекуле полипептида. Кроме того, антигенсвязывающий фрагмент антитела по настоящему изобретению может содержать гомодимер или гетеродимер (или другой мультимер) из любых конфигураций вариабельных и константных доменов, изложенных выше, в нековалентной ассоциации друг с другом и/или с одним или несколькими мономерными доменами VH или VL (например, при помощи дисульфидной (дисульфидных) связи (связей)).

Как и в случае с целыми молекулами антител антигенсвязывающие фрагменты могут быть моноспецифическими или мультиспецифическими (например, биспецифическими).

Мультиспецифический антигенсвязывающий фрагмент антитела будет, как правило, содержать по меньшей мере два различных вариабельных домена, где каждый вариабельный домен способен специфически связываться с отдельным антигеном или с другим эпитопом того же самого антигена. Любой формат мультиспецифических антител, в том числе форматы иллюстративных биспецифических антител, раскрытых в данном документе, могут быть адаптированы для применения в контексте антигенсвязывающего фрагмента антитела по настоящему изобретению при помощи стандартных методик, доступных из уровня техники.

Константный участок антитела важен с точки зрения способности антитела прикрепляться к комплементу и опосредовать клетчнозависимую цитотоксичность. Таким образом, изотип антитела может быть выбран на основании того, является ли он требуемым для антитела с тем, чтобы опосредовать цитотоксичность.

Термин "человеческое антитело", используемый в данном документе, предназначен для включения антител, имеющих вариабельные и константные участки, полученные из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. Человеческие антитела по настоящему изобретению при этом могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулинов зародышевой линии человека (например, мутации, вводимые случайным или сайт-специфичным мутагенезом *in vitro* или соматической мутацией *in vivo*), например, в CDR и, в частности, CDR3. Однако термин "человеческое антитело", используемый в данном документе, не предназначен для включения антител, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии другого вида млекопитающего, такого как мышь, привиты на каркасные последовательности человека.

Термин "рекомбинантное человеческое антитело", используемый в данном документе, предназначен для включения всех человеческих антител, которые получены, экспрессированы, созданы или выделены рекомбинантными способами, таких как антитела, экспрессируемые с помощью рекомбинантного вектора экспрессии, трансформированного в клетку-хозяина (описанные далее), антитела, выделенные из комбинаторной библиотеки рекомбинантных человеческих антител (описанные далее), антитела, выделенные из животного (например, мыши), которое является трансгенным по генам человеческих иммуноглобулинов (см., например, Taylor et al. (1992) *Nucl. Acids Res.* 20:6287-6295), или антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любыми другими способами, которые включают соединение последовательностей генов человеческих иммуноглобулинов с другими последовательностями ДНК. Такие рекомбинантные человеческие антитела имеют вариабельные и константные участки, полученные из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. Однако в определенных вариантах осуществления такие рекомбинантные человеческие антитела подвергают мутагенезу *in vitro* (или в случае использования животного, трансгенного по последовательностям человеческого Ig, соматическому мутагенезу *in vivo*) и, таким образом, аминокислотные последовательности участков VH и VL рекомбинантных антител представляют собой последовательности, которые, будучи полученными из последовательностей VH и VL зародышевой линии человека и родственными этим последовательностям, могут не встречаться в природе в репертуаре антител зародышевой линии человека *in vivo*.

Человеческие антитела могут встречаться в двух формах, которые связаны с гетерогенностью шарниров. В одной форме молекула иммуноглобулина содержит стабильную четырехцепочечную конструкцию массой примерно 150-160 кДа, в которой димеры связаны вместе межцепьевой дисульфидной связью, которая связывает тяжелые цепи. Во второй форме димеры не связаны межцепевыми дисульфидными связями, а образуется молекула массой приблизительно 75-80 кДа, состоящая из ковалентно связанных легкой и тяжелой цепей (полуантитело). Эти формы крайне сложно разделить даже после аффинной очистки.

Частота возникновения второй формы в различных изотипах интактных IgG связана без ограничения со структурными различиями, связанными с изотипом шарнирного участка антитела. Одна аминокислотная замена в шарнирном участке 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 с одной или несколькими мутациями в шарнирном участке, участке CH2 или CH3, которые могут быть желательны, например, при получении для повышения выхода предпочтительной формы антитела.

Термин "выделенное антитело", используемый в данном документе, означает антитело, которое было идентифицировано и отделено и/или извлечено по меньшей мере от/из одного компонента своего естественного окружения. Например, антитело, которое было отделено или извлечено по меньшей мере или от/из одного компонента организма, или от/из ткани или клетки, в которых антитело изначально присутствует или продуцируется естественным путем, представляет собой "выделенное антитело" для целей настоящего изобретения. Выделенное антитело также включает антитело *in situ* в рекомбинантной клетке. Выделенные антитела представляют собой антитела, которые подвергаются по меньшей мере одной стадии очистки или выделения. Согласно определенным вариантам осуществления выделенное антитело может практически не содержать других клеточного материала и/или химических соединений.

Термин "специфически связывается" или ему подобное означает, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент образуют комплекс с антигеном, который является сравнительно устойчивым в физиологических условиях. Способы определения наличия специфического связывания антитела с антигеном хорошо известны в данной области и включают, например, равновесный диализ, поверхностный плазмонный резонанс и им подобные. Например, антитело, которое "специфически связывается" с PCSK9, используемое в контексте настоящего изобретения, включает антитела, которые связываются с PCSK9 или его частью с KD менее приблизительно 1000 нМ, менее приблизительно 500 нМ, менее приблизительно 300 нМ, менее приблизительно 200 нМ, менее приблизительно 100 нМ, менее приблизительно 90 нМ, менее приблизительно 80 нМ, менее приблизительно 70 нМ, менее приблизительно 60 нМ,

менее приблизительно 50 нМ, менее приблизительно 40 нМ, менее приблизительно 30 нМ, менее приблизительно 20 нМ, менее приблизительно 10 нМ, менее приблизительно 5 нМ, менее приблизительно 4 нМ, менее приблизительно 3 нМ, менее приблизительно 2 нМ, менее приблизительно 1 нМ или менее приблизительно 0,5 нМ, измеренной в анализе поверхностного плазмонного резонанса. Однако выделенное антитело, которое специфически связывается с PCSK9 человека может в определенных вариантах осуществления характеризоваться перекрестной реактивностью по отношению к другим антигенам, таким как молекулы PCSK9 из других (не относящихся к человеку) видов.

Антитела к PCSK9, пригодные для способов по настоящему изобретению, могут содержать одну или несколько аминокислотных замен, вставок и/или делеций в каркасных участках и/или участках CDR вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей по сравнению с соответствующими последовательностями зародышевой линии, из которых были получены антитела. Такие мутации можно легко определить сравнением аминокислотных последовательностей, раскрытых в данном документе, с последовательностями зародышевой линии, доступными, например, из публичных баз данных последовательностей антител. Настоящее изобретение включает способы, включающие применение антител и их антигенсвязывающих фрагментов, которые получены из любых аминокислотных последовательностей, раскрытых в данном документе, где одна или несколько аминокислот в одном или нескольких каркасных участках и/или участках CDR мутированы в соответствующий (соответствующие) остаток (остатки) последовательности зародышевой линии, из которой антитело получено, или в соответствующий (соответствующие) остаток (остатки) последовательности другой зародышевой линии, или в консервативную аминокислотную замену соответствующего (соответствующих) остатка (остатков) зародышевой линии (такие изменения последовательностей называются в данном документе собирательно как "мутации зародышевой линии"). Специалист в данной области, начиная с последовательностей вариабельных участков тяжелой и легкой цепей, раскрытых в данном документе, может легко получить несколько антител и антигенсвязывающих фрагментов, которые содержат одну или несколько отдельных мутаций зародышевой линии или их комбинации. В определенных вариантах осуществления все из каркасных остатков и/или остатков CDR в доменах VH и/или VL обратно мутированы в остатки, встречающиеся в исходной последовательности зародышевой линии, из которой антитело получено. В других вариантах осуществления лишь определенные остатки обратно мутированы в исходную последовательность зародышевой линии, например лишь мутированные остатки, обнаруженные в первых 8 аминокислотах FR1 или в последних 8 аминокислотах FR4, или лишь мутированные остатки, обнаруженные в CDR1, CDR2 или CDR3. В других вариантах осуществления один или несколько из каркасных остатков и/или остатков CDR мутированы в соответствующий (соответствующие) остаток (остатки) последовательности другой зародышевой линии (т.е. последовательности зародышевой линии, которая отличается от последовательности зародышевой линии, из которой изначально получено антитело). Кроме того, антитела по настоящему изобретению могут содержать любую комбинацию из двух или более мутаций зародышевой линии в каркасных участках и/или участках CDR, например, где определенные отдельные остатки мутированы в соответствующий остаток определенной последовательности зародышевой линии, в то время как определенные другие остатки, которые отличаются от исходной последовательности зародышевой линии, сохраняются или мутированы в соответствующий остаток последовательности другой зародышевой линии. Сразу после получения антитела и антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат одну или несколько мутаций зародышевой линии, могут быть легко протестированы в отношении одного или нескольких требуемых свойств, таких как улучшенная специфичность связывания, повышенная аффинность связывания, улучшенные или усиленные биологические антагонистические или агонистические свойства (в случае необходимости), сниженная иммуногенность и т.п. Применение антител и антигенсвязывающих фрагментов, полученных при помощи этого общего способа, охвачено настоящим изобретением.

Настоящее изобретение также включает способы, включающие применение антител к PCSK9, содержащих варианты любых из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе, с одной или несколькими консервативными заменами. Например, настоящее изобретение включает применение антител к PCSK9 с аминокислотными последовательностями 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 по отношению к любой из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе.

Термин "поверхностный плазмонный резонанс", используемый в данном документе, относится к оптическому феномену, который предусматривает анализ взаимодействий в реальном времени посредством выявления изменений концентраций белков в биосенсорной матрице, например, при помощи системы BIAcore™ (Biacore Life Sciences division GE Healthcare, Пискатауэй, Нью-Джерси).

Предполагается, что термин "KD", используемый в данном документе, относится к равновесной константе диссоциации определенного взаимодействия антитело-антиген.

Термин "эпитоп" относится к антигенной детерминанте, которая взаимодействует со специфическим антигенсвязывающим сайтом в вариабельном участке молекулы антитела, известным как паратоп. Один антиген может иметь более одного эпитопа. Таким образом, различные антитела могут связываться с различными областями на антигене и могут иметь различные биологические эффекты. Эпитопы могут

быть конформационными или линейными. Конформационный эпитоп образован расположенными рядом в пространственном отношении аминокислотами из различных сегментов линейной полипептидной цепи. Линейный эпитоп образован прилежащими аминокислотными остатками в полипептидной цепи. При определенных условиях эпитоп может включать фрагменты сахаридов, фосфорильных групп или сульфонильных групп антигена.

Согласно определенным вариантам осуществления антитело к PCSK9, используемое в способах по настоящему изобретению, является антителом с pH-зависимыми характеристиками связывания. Используемое в данном документе выражение "pH-зависимое связывание" означает, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент проявляет "сниженное связывание с PCSK9 при кислом pH по сравнению с нейтральным pH" (для целей настоящего изобретения оба выражения могут использоваться взаимозаменяя). Например, антитела "с pH-зависимыми характеристиками связывания" включают антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются с PCSK9 с более высокой аффинностью при нейтральном pH, чем при кислом pH. В определенных вариантах осуществления антитела и антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению связываются с PCSK9 с аффинностью 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 выше при нейтральном pH, чем при кислом pH.

Согласно данному аспекту настоящего изобретения антитела к PCSK9 с pH-зависимыми характеристиками связывания могут характеризоваться одной или несколькими аминокислотными вариациями по отношению к исходному антителу к PCSK9. Например, антитело к PCSK9 с pH-зависимыми характеристиками связывания может содержать одну или несколько замен гистидином или его вставку, например, в одном или нескольких CDR исходного антитела к PCSK9. Таким образом, согласно определенным вариантам осуществления настоящего изобретения представлены способы, предусматривающие введение антитела к PCSK9, которое содержит аминокислотные последовательности CDR (например, CDR тяжелой и легкой цепей), которые идентичны аминокислотным последовательностям CDR исходного антитела к PCSK9, за исключением замены одной или нескольких аминокислот в одном или нескольких CDR исходного антитела остатком гистидина. Антитела к PCSK9 с pH-зависимым связыванием могут характеризоваться, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или более заменами гистидином, либо в одном CDR исходного антитела, либо расположеными в нескольких (например, 2, 3, 4, 5 или 6) CDR исходного антитела к PCSK9. Например, настоящее изобретение включает применение антител к PCSK9 с pH-зависимым связыванием, содержащих одну или несколько замен гистидином в HCDR1, одну или несколько замен гистидином в HCDR2, одну или несколько замен гистидином в HCDR3, одну или несколько замен гистидином в LCDR1, одну или несколько замен гистидином в LCDR2 и/или одну или несколько замен гистидином в LCDR3 исходного антитела к PCSK9.

Используемое в данном документе выражение "кислый pH" означает pH 6,0 или менее (например, менее приблизительно 6,0, менее приблизительно 5,5, менее приблизительно 5,0 и т.д.). Выражение "кислый pH" включает значения pH, составляющие приблизительно 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. Используемое в данном документе выражение "нейтральный pH" означает pH от приблизительно 7,0 до приблизительно 7,4. Выражение "нейтральный pH" включает значения pH, составляющие приблизительно 7,0, 7,05, 7,1, 7,15, 7,2, 7,25, 7,3, 7,35 и 7,4.

Получение человеческих антител.

Способы получения человеческих антител у трансгенных мышей известны из уровня техники. Любые такие известные способы можно использовать в контексте настоящего изобретения для создания человеческих антител, которые специфически связываются с PCSK9 человека.

При помощи технологии VELOCIMMUNE™ (см., например, US 6596541, Regeneron Pharmaceuticals) или любого другого известного способа получения моноклональных антител химерные антитела к PCSK9 с высокой аффинностью изначально выделяют с человеческим вариабельным участком и мышьным константным участком. Технология VELOCIMMUNE® включает получение трансгенной мыши с геном, содержащим вариабельные участки человеческих тяжелой и легкой цепей, функционально связанные с эндогенными мышьными локусами константного участка так, что мышь продуцирует антитело, содержащее человеческий вариабельный участок и мышьный константный участок в ответ на антигенную стимуляцию. ДНК, кодирующую вариабельные участки тяжелой и легкой цепей антитела, выделяют и функционально связывают с ДНК, кодирующей константные участки человеческих тяжелой и легкой цепей. Затем ДНК экспрессируют в клетке, способной экспрессировать целое человеческое антитело.

Как правило, мышь, полученную при помощи VELOCIMMUNE®, подвергают воздействию антигеном, представляющим интерес, и лимфатические клетки (такие как В-клетки) извлекают из мышей, которые экспрессируют антитела. Лимфатические клетки можно подвергать слиянию с линией клеток миеломы с получением иммортализированных линий клеток гибридомы, и такие линии клеток гибридомы исследуют и выбирают для выявления линий клеток гибридомы, которые продуцируют антитела, специфические к антигену, представляющему интерес. ДНК, кодирующую вариабельные участки тяжелой цепи

и легкой цепи, может быть выделена и связана с константными участками желаемых изотипов тяжелой цепи и легкой цепи. Такой белок-антитело может продуцироваться в клетке, такой как клетка СНО. Альтернативно ДНК, кодирующая антиген-специфические химерные антитела или вариабельные домены легкой и тяжелой цепей, может быть выделена непосредственно из антиген-специфических лимфоцитов.

Изначально выделяют химерные антитела с высокой аффинностью, имеющие человеческий вариабельный участок и мышиный константный участок. Антитела характеризуют и выбирают по требуемым характеристикам, в том числе по аффинности, селективности, эпитопу и т.д., при помощи стандартных процедур, известных специалистам в данной области. Мышиные константные участки заменяют требуемым человеческим константным участком с получением полностью человеческого антитела по настоящему изобретению, например IgG1 или IgG4 дикого типа или модифицированного IgG1 или IgG4. В то время как выбранный константный участок может варьировать в зависимости от конкретного применения, в вариабельном участке сохраняются характеристики связывания с антигеном с высокой аффинностью или специфичности к мишениям.

Как правило, антитела, которые можно применять в способах по настоящему изобретению, характеризуются высокой аффинностью, как описано выше, при измерении связывания с антигеном как при иммобилизации на твердой фазе, так и в жидкой фазе. Мышиные константные участки заменяют требуемыми человеческими константными участками с получением полностью человеческих антител по настоящему изобретению. В то время как выбранный константный участок может варьировать в зависимости от конкретного применения, в вариабельном участке сохраняются характеристики связывания с антигеном с высокой аффинностью или специфичности к мишениям.

Конкретные примеры человеческих антител или антигенсвязывающих фрагментов антител, которые специфически связываются с PCSK9, которые можно применять в контексте способов по настоящему изобретению, включают любое антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит три CDR тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащиеся в вариабельном участке тяжелой цепи (HCVR), с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1 и 11 или практически подобной им последовательности, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична с последовательностью. Альтернативно конкретные примеры человеческих антител или антигенсвязывающих фрагментов антител, которые специфически связываются с PCSK9, которые можно применять в контексте способов по настоящему изобретению, включают любое антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит три CDR тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащиеся в вариабельном участке тяжелой цепи (HCVR), с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 37, 45, 53, 61, 69, 77, 85, 93, 101, 109, 117, 125, 133, 141, 149, 157, 165, 173, 181 и 189 или практически подобной им последовательности, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична с последовательностью. Альтернативно конкретные примеры человеческих антител или антигенсвязывающих фрагментов антител, которые специфически связываются с PCSK9, которые можно применять в контексте способов по настоящему изобретению, включают любое антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит три CDR легкой цепи (LCVR1, LCVR2 и LCVR3), содержащиеся в вариабельном участке легкой цепи (LCVR), с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6 и 15 или практически подобной им последовательности, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична с последовательностью. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент может содержать три CDR легкой цепи (LCVR1, LCVR2 и LCVR3), содержащиеся в вариабельном участке легкой цепи (LCVR), с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 97, 105, 113, 121, 129, 137, 145, 153, 161, 169, 177, 185 и 193 или практически подобной им последовательности, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична с последовательностью.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат шесть CDR (HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3) из пар аминокислотных последовательностей вариабельных участков тяжелой и легкой цепей (HCVR/LCVR), выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1/6 и 11/15. Альтернативно в определенных вариантах осуществления настоящего изобретения антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержат шесть CDR (HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3) из пар аминокислотных последовательностей вариабельных участков тяжелой и легкой цепей (HCVR/LCVR), выбранных из группы, состоящей из SEQ 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 определенных вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к PCSK9 или его антигенсвязывающий фрагмент, которые можно применять в способах по настоящему изобретению, имеют аминокислотные последовательности HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3, выбранные из SEQ ID NO: 2/3/4/7/8/10 (mAb316P) и 12/13/14/16/17/18 (mAb300N) (см. публикацию заявки на выдачу патента США № 2010/0166768).

В определенных вариантах осуществления по настоящему изобретению антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит пары аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1/6 и 11/15. Альтернативно в определенных вариантах осуществле-

ния настоящего изобретения антитело или антигенсвязывающий белок содержат пары аминокислотных последовательностей вариабельных участков тяжелой и легкой цепей (HCVR/LCVR), выбранные из группы, состоящей из SEQ 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.

Фармацевтические композиции и способы введения.

Настоящее изобретение включает способы, которые предусматривают введение пациенту с высоким сердечно-сосудистым риском ингибитора PCSK9, где ингибитор PCSK9 содержится в фармацевтической композиции. Фармацевтические композиции по настоящему изобретению составляют с подходящими носителями, наполнителями и другими средствами, которые обеспечивают подходящий перенос, доставку, переносимость и подобное. Множество подходящих составов можно найти в справочнике, известном всем химикам-фармацевтам: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Истон, Пенсильвания. Эти составы включают, например, порошки, пасты, мази, желе, воски, масла, липиды, содержащие (катионные или анионные) липиды пузырьки (такие как LIPOFECTIN™), конъюгаты ДНК, безводные абсорбционные пасты, эмульсии типа "масло в воде" и "вода в масле", эмульсии карбовакс (полиэтиленгликоли с различной молекулярной массой), полужидкие гели и полужидкие смеси, содержащие карбовакс. См. также Powell et al.: "Compendium of excipients for parenteral formulations", PDA (1998), J Pharm Sci Technol, 52:238-311.

Известны различные системы доставки, которые можно использовать для введения фармацевтической композиции по настоящему изобретению, например инкапсулирование в липосомы, микрочастицы, микрокапсулы, рекомбинантные клетки, способные экспрессировать мутантные вирусы, опосредованный рецепторами эндоцитоз (см., например, Wu et al., 1987, J. Biol. Chem., 262:4429-4432). Способы введения включают без ограничения внутрикожный, внутримышечный, интраперитонеальный, внутривенный, подкожный, интраназальный, эпидуральный и пероральный пути. Композицию можно вводить любым удобным способом, например инфузией или болюсной инъекцией, абсорбцией через эпителиальные или кожно-слизистые покровы (например, слизистую ротовой полости, слизистую прямой кишки и кишечника и др.), и можно вводить совместно с другими биологически активными средствами.

Фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно доставлять подкожно или внутривенно при помощи стандартной иглы и шприца. Кроме того, в отношении подкожной доставки при доставке фармацевтической композиции по настоящему изобретению широко используется устройство для доставки в виде шприц-ручки. Такое устройство для доставки в виде шприц-ручки может быть многоразового и одноразового использования. В устройстве для доставки в виде шприц-ручки многоразового использования, как правило, используется заменяемый картридж, который содержит фармацевтическую композицию. После того как вся фармацевтическая композиция в картриidge была введена и картридж опустел, пустой картридж можно легко утилизировать и заменить новым картриджем, который содержит фармацевтическую композицию. Затем устройство для доставки в виде шприц-ручки можно использовать повторно. В устройстве для доставки в виде шприц-ручки одноразового использования заменяемый картридж отсутствует. Вместо этого устройство для доставки в виде шприц-ручки одноразового использования выпускают предварительно наполненным фармацевтической композицией, содержащейся в резервуаре устройства. После того как резервуар опорожнят от фармацевтической композиции, все устройство утилизируют.

Многочисленные устройства для доставки в виде шприц-ручки или автоинъектора многоразового использования используются при подкожной доставке фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Примеры включают без ограничения AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Вудсток, Великобритания), шприц-ручку DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Бургдорф, Швейцария), шприц-ручку HUMALOG MIX 75/25™, шприц-ручку HUMALOG™, шприц-ручку HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co., Индианаполис, Индиана), NOVOPEN™ I, II и III (Novo Nordisk, Копенгаген, Дания), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Копенгаген, Дания), шприц-ручку BD™ (Becton Dickinson, Франклин-Лэйкс, Нью-Джерси), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ и OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Франкфурт, Германия), при этом упомянуты лишь несколько из них. Примеры устройств для доставки в виде шприц-ручки многоразового использования, используемых при подкожном введении фармацевтической композиции по настоящему изобретению, включают без ограничения шприц-ручку SOLOSTAR™ (Sanofi-Aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk) и KWIKPEN™ (Eli Lilly), автоинъектор SURECLICK™ (Amgen, Таузанд-Окс, Калифорния), PENLET™ (Haselmeier, Штутгарт, Германия), EPIPEN (Dey, L.P.) и шприц-ручку HUMIRA™ (Abbott Labs, Эббот-Парк, Иллинойс), при этом упомянуты лишь несколько из них.

В определенных ситуациях фармацевтическую композицию можно доставлять в системе с контролируемым высвобождением. В одном варианте осуществления можно использовать насос (см. Langer, выше; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201). В другом варианте осуществления можно использовать полимерные материалы (см. Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida). В еще одном варианте осуществления системы с контролируемым высвобождением можно поместить вблизи от мишени композиции, при этом требуется лишь часть сис-

темной дозы (см., например, Goodson, 1984, in Medical Applications of Controlled Release, выше, vol. 2, p. 115-138). Другие системы с контролируемым высвобождением описаны в обзорной публикации Langer, 1990, Science 249:1527-1533.

Инъекционные препараты могут включать лекарственные формы для внутривенных, подкожных, внутркожных и внутримышечных инъекций, для капельного введения и т.п. Эти инъекционные препараты можно получать при помощи известных способов. Например, инъекционные препараты можно получать, например, растворением, суспендированием или эмульгированием антитела или его соли, описанных выше, в стерильной водной среде или масляной среде, обычно используемых для инъекций. Водной средой для инъекций является, например, физиологический солевой раствор, изотонический раствор, содержащий глюкозу и другие вспомогательные средства и т.п., которые можно использовать в комбинации с подходящим солюбилизирующим средством, таким как спирт (например, этанол), многоатомный спирт (например, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль), неионогенное поверхностно-активное вещество (например, полисорбат 80, НСО-50 (полиоксиэтиленовый (50 молей) аддукт гидрогенизированного касторового масла)) и т.п. В качестве масляной среды используют, например, кунжутное масло, соевое масло и т.п., которые можно использовать в комбинации с солюбилизирующим средством, таким как бензилбензоат, бензиловый спирт и т.п. Полученным таким способом инъекционным составом предпочтительно наполняют подходящую ампулу.

Преимущественно фармацевтические композиции для перорального или парентерального применения, описанные выше, получают в лекарственных формах в стандартной дозе, подходящей для подбора дозы активных ингредиентов. Такие лекарственные формы в стандартной дозе включают, например, таблетки, пилюли, капсулы, инъекции (ампулы), суппозитории и т.п.

Доза.

Количество ингибитора PCSK9 (например, антитела к PCSK9), вводимого субъекту согласно способам по настоящему изобретению, как правило, представляет собой терапевтически эффективное количество. Используемая в данном документе фраза "терапевтически эффективное количество" означает дозу ингибитора PCSK9, которая в результате приводит к выявляемому улучшению (по меньшей мере на приблизительно 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75% или более от исходного уровня) одного или нескольких параметров, выбранных из группы, состоящей из LDL-C, ApoB100, не-HDL-C, общего холестерина, VLDL-C, триглицеридов, Lp(a) и остаточного холестерина.

В случае антитела к PCSK9 терапевтически эффективное количество может составлять от приблизительно 0,05 мг до приблизительно 600 мг, например приблизительно 0,05 мг, приблизительно 0,1 мг, приблизительно 1,0 мг, приблизительно 1,5 мг, приблизительно 2,0 мг, приблизительно 10 мг, приблизительно 20 мг, приблизительно 30 мг, приблизительно 40 мг, приблизительно 50 мг, приблизительно 60 мг, приблизительно 70 мг, приблизительно 75 мг, приблизительно 80 мг, приблизительно 90 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 110 мг, приблизительно 120 мг, приблизительно 130 мг, приблизительно 140 мг, приблизительно 150 мг, приблизительно 160 мг, приблизительно 170 мг, приблизительно 180 мг, приблизительно 190 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 210 мг, приблизительно 220 мг, приблизительно 230 мг, приблизительно 240 мг, приблизительно 250 мг, приблизительно 260 мг, приблизительно 270 мг, приблизительно 280 мг, приблизительно 290 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 310 мг, приблизительно 320 мг, приблизительно 330 мг, приблизительно 340 мг, приблизительно 350 мг, приблизительно 360 мг, приблизительно 370 мг, приблизительно 380 мг, приблизительно 390 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 410 мг, приблизительно 420 мг, приблизительно 430 мг, приблизительно 440 мг, приблизительно 450 мг, приблизительно 460 мг, приблизительно 470 мг, приблизительно 480 мг, приблизительно 490 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 510 мг, приблизительно 520 мг, приблизительно 530 мг, приблизительно 540 мг, приблизительно 550 мг, приблизительно 560 мг, приблизительно 570 мг, приблизительно 580 мг, приблизительно 590 мг или приблизительно 600 мг антитела к PCSK9. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела к PCSK9 составляет приблизительно 75 мг. В других вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела к PCSK9 составляет приблизительно 150 мг.

Количество антитела к PCSK9, содержащееся в отдельных дозах, можно выражать в миллиграммах антитела на килограмм массы тела пациента (т.е. мг/кг). Например, антитело к PCSK9 можно вводить пациенту в дозе от приблизительно 0,0001 до приблизительно 10 мг/кг веса тела пациента.

Виды комбинированной терапии.

Как описано в других частях данного документа, способы по настоящему изобретению могут включать введение пациенту с высоким сердечно-сосудистым риском ингибитора PCSK9 совместно с ранее назначенной пациенту схемой лечения постоянной ежедневной максимально переносимой дозой статинов. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения дополнительные лекарственные средства, помимо статина, можно вводить пациенту с высоким сердечно-сосудистым риском в комбинации с ингибитором PCSK9. Примеры таких дополнительных лекарственных средств включают, например, (1) средство, которое ингибирует захват холестерина и/или реабсорбцию желчных кислот (например, эзетимиб), (2) средство, которое повышает катаболизм липопротеинов (такое как ниацин), и/или (3) активаторы фактора транскрипции LXR, который играет роль в выведении холестерина, такого как 22-

гидроксихолестерин.

Схемы введения.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения субъекту с высоким сердечно-сосудистым риском в течение определенного периода времени (например, наряду со схемой лечения ежедневной дозой статинов) можно вводить несколько доз ингибитора PCSK9 (т.е. фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9). Способы по данному аспекту настоящего изобретения включают последовательное введение субъекту нескольких доз ингибитора PCSK9. Используемое в данном документе выражение "последовательное введение" означает, что каждую дозу ингибитора PCSK9 вводят субъекту в разные моменты времени, например в разные дни, разделенные предварительно определенным интервалом (например, часами, днями, неделями или месяцами). Настоящее изобретение включает способы, которые предусматривают последовательное введение пациенту с высоким сердечно-сосудистым риском одной начальной дозы ингибитора PCSK9, затем одной или нескольких вторичных доз ингибитора PCSK9, а затем необязательно одной или нескольких третичных доз ингибитора PCSK9.

Термины "начальная доза", "вторичные дозы" и "третичные дозы" относятся к временной последовательности введения отдельных доз фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9. Таким образом, "начальная доза" представляет собой дозу, которую вводят в начале лечебной схемы (также обозначается как "исходная доза"); "вторичные дозы" представляют собой дозы, которые вводят после начальной дозы; "третичные дозы" представляют собой дозы, которые вводят после вторичных доз. Все из начальных, вторичных и третичных доз могут содержать одинаковое количество ингибитора PCSK9, но, как правило, могут отличаться друг от друга по частоте введения. Однако в определенных вариантах осуществления количество ингибитора PCSK9, содержащегося в начальных, вторичных и/или третичных дозах, отличается друг от друга (например, его повышают или понижают при необходимости) в ходе курса лечения. В определенных вариантах осуществления две или более (например, 2, 3, 4 или 5) дозы вводят в начале лечебной схемы в виде "ударных доз", затем последующие дозы вводят с меньшей частотой (например, "поддерживающие дозы").

Согласно иллюстративным вариантам осуществления настоящего изобретения каждую вторичную и/или третичную дозу вводят через 1-26 (например, 1, 1 $\frac{1}{2}$, 2, 2 $\frac{1}{2}$, 3, 3 $\frac{1}{2}$, 4, 4 $\frac{1}{2}$, 5, 5 $\frac{1}{2}$, 6, 6 $\frac{1}{2}$, 7, 7 $\frac{1}{2}$, 8, 8 $\frac{1}{2}$, 9, 9 $\frac{1}{2}$, 10, 10 $\frac{1}{2}$, 11, 11 $\frac{1}{2}$, 12, 12 $\frac{1}{2}$, 13, 13 $\frac{1}{2}$, 14, 14 $\frac{1}{2}$, 15, 15 $\frac{1}{2}$, 16, 16 $\frac{1}{2}$, 17, 17 $\frac{1}{2}$, 18, 18 $\frac{1}{2}$, 19, 19 $\frac{1}{2}$, 20, 20 $\frac{1}{2}$, 21, 21 $\frac{1}{2}$, 22, 22 $\frac{1}{2}$, 23, 23 $\frac{1}{2}$, 24, 24 $\frac{1}{2}$, 25, 25 $\frac{1}{2}$, 26, 26 $\frac{1}{2}$ или более) недель после непосредственно предшествующей дозы. Фраза "непосредственно предшествующая доза", используемая в данном документе, означает, последовательно несколько введений, дозу антагонизирующей молекулы, которую вводят пациенту до введения ближайшей следующей дозы последовательно без находящихся между ними доз.

Способы по данному аспекту настоящего изобретения могут включать введение пациенту с высоким сердечно-сосудистым риском любого количества вторичных и/или третичных доз ингибитора PCSK9. Например, в определенных вариантах осуществления пациенту вводят только одну 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 определенных вариантах осуществления пациенту вводят только одну 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 несколько вторичных доз, каждую вторичную дозу можно вводить с той же самой частотой, что и другие вторичные дозы. Например, каждую вторичную дозу можно вводить пациенту через 1-2, 4, 6, 8 или более недель после непосредственно предшествующей дозы. Аналогично в вариантах осуществления, включающих несколько третичных доз, каждую третичную дозу можно вводить с той же самой частотой, что и другие третичные дозы. Например, каждую третичную дозу можно вводить 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 отличаться в ходе лечебной схемы. Частоту введения может корректировать врач в ходе курса лечения в зависимости от потребностей отдельного пациента после клинического обследования.

В определенных вариантах осуществления антитело к PCSK9 вводят субъекту в дозе приблизительно 75 мг каждые 2 недели, например, в количестве по меньшей мере 2 доз.

В определенных вариантах осуществления антитело к PCSK9 вводят субъекту в дозе приблизительно 150 мг каждые 2 недели, например, в количестве по меньшей мере 2 доз.

Настоящее изобретение включает режимы введения, предусматривающие вариант с повышением (также обозначается в данном документе как "изменение дозы"). Используемое в данном документе выражение "вариант с повышением" означает, что после получения одной или нескольких доз ингибитора PCSK9, в случае если пациент с высоким сердечно-сосудистым риском не достиг установленного снижения одного или нескольких определенных терапевтических параметров, дозу ингибитора PCSK9 впоследствии повышают. Например, в случае использования схемы лечения, предусматривающей введение пациенту с высоким сердечно-сосудистым риском антитела к PCSK9 в дозах по 75 мг с частотой один раз каждые 2 недели, если через 4 недели (т.е. 2 дозы) пациент с высоким сердечно-сосудистым риском характеризуется концентрацией LDL-C в сыворотке крови ≥ 50 мг/дл, то дозу антитела к PCSK9 повы-

шают до 150 мг, которую вводят впоследствии 1 раз каждые 2 недели.

В некоторых вариантах осуществления антитела вводят субъекту в дозе приблизительно 75 мг каждые 2 недели в течение 4 недель и дозу сохраняют на уровне 75 мг каждые 2 недели, в случае если на 4 неделе величина LDL-C у субъекта составляет <50 мг/дл.

В дополнительных вариантах осуществления если уровень LDL-C у пациента составляет <25 мг/дл при любом из 2 последующих измерений при дозе 150 мг, то дозу впоследствии снижают до 75 мг.

Примеры

Следующие примеры изложены для того, чтобы обеспечить специалистов в данной области полным раскрытием и описанием того, как осуществлять и применять способы и получать и применять композиции по настоящему изобретению, и они не предполагают ограничение объема того, что авторы настоящего изобретения рассматривают в качестве своего изобретения. Были приложены усилия для обеспечения точности по отношению к используемым числам (например, количеству, температуре и т.п.), однако необходимо учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, то части являются частями по массе, молекулярная масса является средней молекулярной массой, температура представлена в градусах Цельсия, а давление является атмосферным или близким к атмосферному.

Пример 1. Получение человеческих антител к PCSK9 человека.

Человеческие антитела к PCSK9 получали, как описано выше в патенте США № 8062640. Иллюстративный ингибитор PCSK9, используемый в следующем примере, представляет собой человеческое антитело к PCSK9, обозначаемое "mAb316P", также известное как "алирокумаб". mAb316P имеет следующие характеристики аминокислотной последовательности: вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий SEQ ID NO: 1, вариабельный домен легкой цепи (LCVR), содержащий SEQ ID NO: 6; определяющий комплементарность участок 1 тяжелой цепи (HCDR1), содержащий SEQ ID NO: 2, HCDR2, содержащий SEQ ID NO: 3, HCDR3, содержащий SEQ ID NO: 4, определяющий комплементарность участок 1 легкой цепи (LCDR1), содержащий SEQ ID NO: 7, LCDR2, содержащий SEQ ID NO: 8, и LCDR3, содержащий SEQ ID NO: 10.

Пример 2. Эффект алирокумаба, моноклонального антитела к PCSK9, на долговременные исходы в отношении сердечно-сосудистой системы после острого коронарного синдрома.

Введение.

Статины были одобрены для клинического применения в 1987 г. С тех пор не было проверено никакой липид-корригирующей терапии для улучшения исходов в отношении сердечно-сосудистой системы на фоне лечения статинами. Однако протестированные на сегодняшний день способы лечения, включая ниацин, фенофибрат, эзетимиб, пиоглитазон и далцетрапиб, обладают умеренными эффектами на уровень LDL-C. Ингибиция PCSK9 предусматривает возможность протестировать, может ли существенное дальнейшее снижение уровней LDL-C и других атерогенных липопротеинов обеспечить дальнейшее улучшение исходов в отношении сердечно-сосудистой системы за пределами тех, что доступны при помощи статинов.

Данное исследование определит, уменьшит ли алирокумаб полностью человеческое антитело к PCSK9 сердечно-сосудистый риск при добавлении к оптимальной терапии статинами. Пациентов с недавним острым коронарным синдромом выбирали в качестве исследуемой популяции, потому что они сталкиваются с более высоким риском повторных приступов, чем пациенты с постоянным сердечно-сосудистым заболеванием, и следовательно они могут получить большую абсолютную пользу от эффективного нового лечения. Исследуемую популяцию дополнительно определяли по минимальным установленным уровням атерогенных липопротеинов, для того чтобы выявить тех, чей остаточный сердечно-сосудистый риск вероятно подлежит изменению последующим снижением этих уровней липопротеинов. Данное исследование также предоставит существенную информацию касательно безопасности ингибиции PCSK9. Данное исследование было инициировано в 2012 г. и продолжается в настоящий момент.

Цель исследования.

Настоящее исследование является инициированным исследователем международным мультицентровым рандомизированным двойным слепым плацебо-контролируемым исследованием примерно 18000 пациентов с недавним острым коронарным синдромом (ACS). Главной целью является оценка, снижает ли алирокумаб (75-150 мг подкожными инъекциями каждые 2 недели), начатый через 1-12 месяцев после зарегистрированного приступа ACS, частоту возникновения составного исхода, включающего смерть в результате коронарного заболевания сердца, серьезные несмертельные коронарные приступы (острый инфаркт миокарда или госпитализацию из-за нестабильной стенокардии) или ишемический инсульт.

Исследуемая популяция.

Главные критерии включения представляют собой

1) госпитализацию из-за ACS, характеризующегося симптомами ишемии миокарда с нестабильной картиной, имеющими место в состоянии покоя или минимального напряжения в течение 72 ч внепланового стационарного лечения по причине предполагаемого или подтвержденного обструктивного заболевания коронарных артерий и по меньшей мере одного из следующего:

а) повышенных кардиальных биомаркеров или

б) ЭКГ-изменений в состоянии покоя, указывающих на ишемию или инфаркт наряду с дополнительным доказательством обструктивного заболевания коронарных артерий в результате нарушения регионарных движений стенок или перфузии, эпикардиального стеноза коронарных сосудов $\geq 70\%$, подтвержденного рентгеноангиографией, или необходимости процедуры реваскуляризации коронарных сосудов; и

2) уровни липидов, резистентных к терапии 40-80 мг аторвастатина или 20-40 мг розувастатина ежедневно или посредством максимально переносимой дозы одного из этих средств, характеризующиеся по меньшей мере одним из следующего:

- а) уровнем LDL-C ≥ 70 мг/дл,
- б) уровнем не-HDL-C ≥ 100 мг/дл или
- в) уровнем аполипопротеина В ≥ 80 мг/дл.

Главные критерии исключения представляют собой

1) возраст <40 лет;

2) установленный зарегистрированный приступ ACS за период <4 или >52 недель перед рандомизацией;

3) отсутствие постоянной липид-корригирующей терапии на протяжении по меньшей мере 2 недель перед рандомизацией;

4) неконтролируемая гипертензия (>180 мм рт.ст. систолическая и/или >110 мм рт.ст. диастолическая во время визита для рандомизации);

5) сохранение сердечной недостаточности III или IV класса согласно Нью-Йоркской кардиологической ассоциации несмотря на лечение или LVEF $<25\%$ при измерении;

6) наличие геморрагического инсульта;

7) уровень триглицеридов натощак >400 мг/дл (4,52 ммоль/л) во время установленного лабораторного визита;

8) регулярные приступы ACS в течение 2 недель до визита для рандомизации;

9) процедура реваскуляризации коронарных сосудов, выполненная в течение 2 недель до визита для рандомизации или запланированная после рандомизации;

10) уровень печеночных трансаминаз >3 раза выше лимита нормы; лабораторное доказательство текущей инфекции, вызванной вирусом гепатита В или С; уровень креатинкиназы >3 раза выше лимита нормы; расчетная скорость клубочковой фильтрации <30 мл/мин/1,73 м²; положительный тест мочи или сыворотки крови на беременность;

11) недавнее диагностирование гипотиреоидизма с лечением, начатым в течение 1 месяца от установленного лабораторного визита;

12) рак в период предыдущих 5 лет за исключением излеченного до той меры, до которой это возможно, базально-клеточного или плоскоклеточного рака кожи или рака шейки матки *in situ*;

13) предыдущее лечение любым антителом PCSK9;

14) применение фибраторов, отличных от фенофибрата или фенофибриновой кислоты, на протяжении подготовительного периода и

15) неспособность обеспечить информированное согласие или соблюдение требований исследования; беременность, лактация или способность к деторождению без использования эффективной контрацепции.

В испытание включали пациентов мужского и женского полов по меньшей мере в возрасте 40 лет, которых госпитализировали из-за ACS, характеризующегося нестабильными симптомами ишемии миокарда, имеющими место в состоянии покоя или минимального напряжения в течение 72 ч внепланового стационарного лечения по причине предполагаемого или подтвержденного обструктивного заболевания коронарных артерий. К тому же требуется, чтобы установленный приступ ACS соответствовал по меньшей мере одному из следующих критерии: повышенному уровню кардиальных биомаркеров, указывающих на острый инфаркт миокарда, или ЭКГ-изменениям в состоянии покоя, указывающим на ишемию или инфаркт наряду с дополнительным доказательством обструктивного заболевания коронарных артерий в результате нарушений визуализации регионарной перфузии или нарушений движения стенок, эпикардиального стеноза коронарных сосудов $>70\%$, подтвержденного рентгеноангиографией, или необходимости реваскуляризации коронарных сосудов, связанной с приступом.

Установленные пациенты должны были демонстрировать нарушенный контроль уровней атерогенных липопротеинов несмотря на стационарное (по меньшей мере 2 недели) лечение 40-80 мг аторвастатина ежедневно, 20-40 мг розувастатина ежедневно или максимально переносимой дозой одного из этих средств. Таким образом, фоновое лечение статинами в данном испытании согласовывается с руководством вторичной профилактики Американской ассоциации изучения сердечных заболеваний (American Heart Association) и Американского кардиологического общества (American College of Cardiology) по снижению уровней холестерина в крови (см. Stone et al. 2013 ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. Circulation 2013). Нарушенный

контроль уровней атерогенных липопротеинов определяли по меньшей мере по одному из следующего: уровня LDL-C ≥ 70 мг/дл (1,81 ммоль/л), холестерина, не относящегося к холестерину липопротеинов высокой плотности (не-HDL-C) ≥ 100 мг/дл (2,59 ммоль/л) или аполипопротеина B ≥ 80 мг/дл (0,8 ммоль/л).

Процедуры исследования.

На фиг. 1 схематически показаны ключевые фазы испытания. У пациентов начался подготовительный период длительностью 2-16 недель. На протяжении этого периода пациентов инструктировали по технике самостоятельного введения препарата с использованием автоинъекторного устройства данного исследования. Начинали и/или корректировали при необходимости аторвастатин (40-80 мг ежедневно) или розувастатин (20-40 мг ежедневно) для определения максимально переносимой дозы. Другие не исключенные виды липид-корригирующей терапии также можно начинать на протяжении подготовительного периода на усмотрение исследователя. После по меньшей мере 2 недель стационарной липид-корригирующей терапии образец крови забирали натощак для определения соответствия критериям по меньшей мере одного установленного уровня липопротеина.

Пациентам, соответствующим всем критериям включения и ни одному критерию исключения на момент окончания подготовительного периода случайным образом назначали начальное лечение 75 мг алирокумаба (объем инъекции 1 мл) подкожно каждые 2 недели или предоставляли плацебо. Визиты по-следующего наблюдения происходили на 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 и 24 месяце после рандомизации, затем в 6-месячные интервалы до даты окончания всего исследования. На момент рандомизации и в многочисленные моменты времени после рандомизации пациентов оценивали в отношении конечных моментов времени исследования и нежелательных явлений и собирали образцы крови и мочи для измерений, включая уровни липопротеинов и аполипопротеинов; общий анализ крови и анализы на биохимию, включая пробу функции печени, мышц и почек; определяли уровень гемоглобина A1c; уровень высокочувствительного С-реактивного белка (hsCRP), уровень антител против алирокумаба, и проводили диагностику беременности у женщин, способных к деторождению. Уровень LDL-C рассчитывали с использованием формулы Фридвальда, кроме случаев когда значения, составляющие <15 мг/дл, подтверждали прямым измерением (а также когда значения TG превышали 400 мг/дл (4,52 ммоль/л)). Образцы также собирали для измерения уровней PCSK9, субфракций липопротеинов и других медиаторов воспаления и сердечно-сосудистого риска. Электрокардиограмму записывали в моменты рандомизации и завершения исследования. На протяжении периода рандомизированного лечения уровни липопротеинов оставались скрытыми для пациентов и исследователей, а лечащих врачей инструктировали, чтобы они воздерживались от привычной клинической апробации липопротеинов.

В данном исследовании стремились определить, улучшает ли достижение уровней LDL-C более низкого количества в физиологических пределах клинические исходы; испытание не разрабатывали для изучения безопасности устойчивых уровней LDL-C ниже физиологических. Соответственно коррекция скрытой дозы и процедуры контроля включена в протокол в указанном ниже порядке. Среди пациентов, которым назначили лечение алирокумабом, если уровень LDL-C, измеренный через 1 месяц после рандомизации (т.е. после 2 доз алирокумаба, составляющих 75 мг, каждые 2 недели), оставался ≥ 50 мг/дл, то дозу алирокумаба повышали скрытым образом до 150 мг каждые 2 недели. Если уровень LDL-C, измеренный через 1 месяц после рандомизации, составлял <50 мг/дл, то дозу алирокумаба продолжали вводить на уровне 75 мг. Если уровень LDL-C составлял <25 мг/дл при любом из 2 последующих измерений с дозой алирокумаба, составляющей 150 мг, то дозу снижали до 75 мг. Если уровень LDL-C составлял <25 мг/дл, но ≥ 15 мг/дл при 2 последующих измерениях с дозой алирокумаба, составляющей 75 мг, то такую дозу продолжали вводить, но за пациентом следили относительно потенциальных связанных нежелательных явлений при помощи независимого врача, следящего за безопасностью, который сообщал об индивидуальных и общих обнаружениях в Независимый комитет по мониторингу данных и безопасности исследования (Data Safety Monitoring Board) (DSMB) и рекомендовал скрытое прекращение лечения, если данные указывали, что нежелательное явление причинно связано с лечением. Если уровень LDL-C составлял <15 мг/дл при 2 последующих измерениях на протяжении лечения при помощи 75 мг алирокумаба, то активное лечение прекращали при следующем визите в период исследования и скрытым образом заменяли на инъекции плацебо в течение оставшегося времени исследования. В общей сложности, данные коррекции скрытой дозы были направлены на максимальное повышение числа пациентов в группе алирокумаба с уровнями LDL-C, составляющими <50 мг/дл, в то же время сводя к минимуму число пациентов с устойчивыми уровнями LDL-C, составляющими <15 мг/дл.

Результаты исследования.

Первичным показателем эффективности является время по отношению к первому случаю смерти по причине коронарного заболевания сердца, серьезному несмертельному коронарному приступу (инфаркту миокарда или госпитализации из-за нестабильной стенокардии) или ишемическому инсульту.

Смерть от коронарного заболевания сердца определена как случай смерти по причине сердечно-сосудистых патологий, в отношении которой наблюдается ясная взаимосвязь с исходящим коронарным заболеванием сердца, включая смерть на фоне острого инфаркта миокарда (MI), внезапную смерть, сер-

дочную недостаточность, осложнение процедуры реваскуляризации коронарных сосудов, выполненной по симптомам, прогрессирование заболевания коронарных сосудов или новую ишемию миокарда, при которой причина смерти ясно связана с процедурой, неопределенную и непредвиденную смерть и иную смерть, которую нельзя однозначно отнести к смерти, причина которой не связана с сосудами.

Острый несмертельный инфаркт миокарда определяли и субклассифицировали в соответствии с Универсальным определением инфаркта миокарда (Universal Definition of Myocardial Infarction) от ACC/AHA/ESC (см. Thygesen et al.: "Third universal definition of myocardial infarction", Eur Heart J., 2012, 33(20):2551-2567). Бессимптомный инфаркт миокарда не рассматривается как часть первичной конечной точки.

Ишемический инсульт определен как

1) острый эпизод фокальной церебральной, спинальной или ретинальной дисфункции, вызванной инфарктом, определенным по меньшей мере одним из следующего:

а) патологическим, визуализированным или другим объективным доказательством острого фокального церебрального, спинального или ретинального ишемического повреждения в определенной сосудистой зоне или

б) симптомом острого церебрального, спинального или ретинального ишемического повреждения, продолжающимся ≥ 24 ч или до смерти, за исключением иных причин болезни;

2) геморрагический инфаркт, рассматривающийся как ишемический инсульт, однако инсульт, вызванный интрацеребральным или субарахноидальным кровоизлиянием не рассматривается как таковой; или

3) типы инсульта, никак иным образом не субклассифицированные, рассматривающиеся как часть первичной конечной точки.

Госпитализацию из-за нестабильной стенокардии определяли как поступление в стационарное или реанимационное отделение с симптомами ишемии миокарда с ускоряющимся темпом на протяжении предыдущих 48 ч и/или дискомфорт в области грудной клетки в состоянии покоя, продолжающийся ≥ 20 мин, к тому же предусматривающий обязательно оба из следующего:

а) новые или предполагаемые новые ишемические ЭКГ-изменения, определенные по снижению ST $>0,5$ мм в 2 смежных отведениях; инверсии Т-волны >1 мм в 2 смежных отведениях с главной R-волной или R/S >1 ; повышение ST в >2 смежных отведениях на $>0,2$ мВ в V2 или V3 у мужчин, $>0,15$ мВ в V2 или V3 у женщин или $>0,1$ мВ в других отведениях или LBBB, и

б) однозначное актуальное доказательство коронарной обструкции, которая требует процедуры реваскуляризации коронарных сосудов, или по меньшей мере одного эпикардиального стеноза $\geq 70\%$.

Процедуры или стенозы в связи только с рестенозом на прежнем месте PCI исключали.

Вторичные конечные точки включали процедуры реваскуляризации коронарных сосудов по причине ишемии, госпитализацию из-за застойной сердечной недостаточности и смертельный исход по любой причине.

Первичными показателями эффективности являются время по отношению к первому случаю смерти по причине коронарного заболевания сердца, несмертельному острому инфаркту миокарда, смертельному или несмертельному ишемическому инсульту или нестабильной стенокардии, требующей госпитализации.

Основными вторичными показателями эффективности являются (в иерархическом порядке)

1) время от рандомизации до первого случая серьезного осложнения коронарного заболевания сердца (смерти от коронарного заболевания сердца или несмертельного инфаркта миокарда), нестабильной стенокардии, требующей госпитализации, или процедуры реваскуляризации коронарных сосудов по причине ишемии (PCI или CABG, за исключением процедур, выполненных исключительно с рестенозом на прежнем месте PCI). Реваскуляризацию коронарных сосудов по причине ишемии необходимо проводить при одном из следующего:

а) острой ишемии (ACS) или

б) новых или прогрессирующих симптомах (стенокардии или эквивалента) или новых или прогрессирующих нарушениях, выявленных в результате функциональных испытаний (например, нагрузочной пробы или визуализации);

2) время от рандомизации до первого случая серьезного осложнения коронарного заболевания сердца;

3) время от рандомизации до первого случая любого сердечно-сосудистого события (любого случая смерти по причине сердечно-сосудистой патологии, любого несмертельного осложнения коронарного заболевания сердца или несмертельного ишемического инсульта);

4) время от рандомизации до первого случая смертельного исхода по любой причине, несмертельного инфаркта миокарда или несмертельного ишемического инсульта и

5) время от рандомизации до смерти (смертельный исход по любой причине).

Другими вторичными показателями эффективности являются

1) время от рандомизации до смерти от коронарного заболевания сердца;

- 2) время от рандомизации до первого случая несмертельного инфаркта миокарда;
- 3) время от рандомизации до первого случая ишемического инсульта;
- 4) время от рандомизации до первого случая нестабильной стенокардии, требующей госпитализации;
- 5) время от рандомизации до первого случая процедуры реваскуляризации коронарных сосудов по причине ишемии; и
- 6) время от рандомизации до первого случая застойной сердечной недостаточности, требующей госпитализации.

Показателями безопасности являются все нежелательные явления, частота сердцебиений и кровяное давление, общий анализ крови и анализы на биохимию.

Другими показателями являются

- 1) уровень антител к алирокумабу, который оценивали на протяжении исследования; и
- 2) изменение в процентах уровней холестерина LDL, аполипопротеина B, холестерина не-HDL и высокочувствительного С-реактивного белка.

Конечные точки лабораторной эффективности включают изменение от исходного уровня в рассчитанных уровнях LDL-C, аполипопротеина B, не-HDL-C и hsCRP. Безопасность лечения алирокумабом оценивали по сообщениям о нежелательных явлениях и лабораторным тестам. Нежелательные явления, представляющие в данном испытании особый интерес, включают аллергические явления, локальные реакции в местах инъекции, повышение уровня ферментов печени и гемолитическую анемию.

Статистические особенности.

Прогнозируемая по методу Каплана-Мейера частота возникновения события первичной конечной точки в группе плацебо составляла 3,8% на 12 месяц, 6,4% на 24 месяц, 9,0% на 36 месяц и 11,4% на 48 месяц. Другие предположения включают потерю 1% пациентов при последующем наблюдении на протяжении 24 месяцев, медианную величину LDL-C на исходном уровне, составляющую 90 мг/дл, и 50% снижение уровня LDL-C от исходного уровня при помощи лечения алирокумабом, что приводит к 15% снижению опасности. На основывании данных предположений и при определении логарифмического рангового критерия с односторонним уровнем значимости 2,49% для учета двух промежуточных анализов, испытание будет обладать 90% мощностью с 1613 событиями первичной конечной точки, соответствующими объему выборки 18000 пациентов, которых рандомизировали более 40 месяцев. Для обеспечения достаточной длительности воздействия алирокумаба для тщательных оценок безопасности и эффективности испытание продолжат до тех пор, пока не будут иметь место 1613 событий первичной конечной точки и все оцениваемые выжившие пациенты не пройдут наблюдение в течение по меньшей мере 2 лет. Для первичного исхода эффекты лечения будут изучены среди подгрупп, классифицированных согласно полу, возрасту, расе, географической области и времени от приступа ACS до рандомизации. Время до развития событий вторичных исходов будет проанализировано с использованием такой же методологии, что и для первичной конечной точки. Для главных вторичных исходов общую ошибку 1 типа будут контролировать при помощи применения последовательного выведенного логически подхода. Модели пропорциональной регрессии опасности создадут для включения изменений или абсолютных значений LDL-C и других параметров липидов. Анализ субпопуляций, определенных при помощи категориальных и непрерывных переменных, будут проводить согласно плану статистического анализа с предварительно заданными параметрами. Результаты безопасности будут представлены группой лечения без формального выведенного логически тестирования.

Независимый DSMB, состоящий из 3 кардиологов, 1 липидолога и 1 статистика, проверял промежуточные данные в регулярные интервалы для оценки безопасности и эффективности. Когда имеет место примерно 50% событий, DSMB будет проводить промежуточный анализ бесполезности (факультативная граница, соответствующая отношению опасности $>1,008$). Когда имеет место примерно 75% событий, DSMB будет проводить второй промежуточный анализ бесполезности (факультативная граница, соответствующая отношению опасности $>0,951$) и огромной эффективности (отношение опасности $<0,802$, соответствующее $p<0,0001$ для первичной конечной точки с согласованностью среди подгрупп и участков, положительных тенденций вторичных конечных точек, включая смертельный исход по любой причине, но без крайности смертельного исхода не в результате сердечно-сосудистой патологии).

Пример 3. Долговременные безопасности и переносимость алирокумаба у пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском, имеющих гиперхолестерolemию, резистентную к липид-корригирующей терапии: рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование.

Введение.

Данное исследование было предпринято для оценки долговременных безопасности и переносимости алирокумаба у пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском без целевого уровня LDL-C. Данная популяция без целевого уровня LDL-C на оптимизированной LMT представляет группу с наивысшим риском с хорошо идентифицируемой нереализованной медицинской потребностью, которую можно решить путем добавления алирокумаба к их видам корригирующей терапии. Сообщали о двух видах результатов: (1) промежуточный анализ с предварительно заданными параметрами выполняли, когда все пациенты достигали периода в исследовании в 1 г. и примерно 25% пациентов достигали

периода в исследовании в 18 месяцев; и (2) конечный анализ популяции для оценки безопасности, когда все пациенты завершали исследование.

Цели исследования.

Главной целью исследования была оценка долговременных безопасности и переносимости алирокумаба у пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском, имеющих гиперхолестеролемию, резистентную к их липид-корригирующей терапии.

Вторичные цели исследования включали оценку эффекта алирокумаба на различные липидные компоненты, связанные с гиперхолестеролемией, включая, например, уровни холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C), аполипопротеина B (Аро B), холестерина, не относящегося к холестериину липопротеинов высокой плотности (не-HDL-C), общего холестерина (общего-C), липопротеина (Lp [a]), холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-C), триглицеридов (TG) и аполипопротеина A-1 (Аро A-1).

Данное исследование также оценивало эффекты в отношении сердечно-сосудистой системы.

План исследования.

Это было рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое несбалансированное (2:1, алирокумаб:плацебо) параллельно-групповое многоцентровое многонациональное исследование, оценивающее долговременные безопасность и переносимость алирокумаба у пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском, имеющих гиперхолестеролемию, которые были резистентны к максимально переносимой ежедневной регистрируемой дозе статина с другой липид-корригирующей терапией или без нее (см. фиг. 2). Пациентов разделяли согласно популяции с heFH, предыдущей истории МИ или ишемического инсульта, лечению статинами и географическому региону. Пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском определяли как

1) характеризующихся heFH (у которых могли быть или нет CHD/эквиваленты риска возникновения CHD); или

2) без предыдущего диагноза heFH, но имеющих гиперхолестеролемию вместе с установленным CHD или эквивалентами риска возникновения CHD.

Пациенты должны иметь гиперхолестеринемию и быть резистентными (т.е. с уровнем LDL-C ≥ 70 мг/дл ($>1,81$ ммоль/л)) несмотря на терапию посредством максимально переносимой ежедневной регистрируемой дозы статина с другой липид-корригирующей терапией или без нее при стабильной дозе на протяжении по меньшей мере 4 недель (6 недель для фенофибрата) до отбора.

Описание протокола.

Пациентов рандомизировали по алирокумабу, получаемому по 150 мг каждые 2 недели. Исследование состояло из 3 периодов: отбора, двойного слепого лечения и последующего наблюдения. Период отбора длился вплоть до 3 недель по длительности. Период двойного слепого лечения представлял собой период рандомизированного двойного слепого исследуемого лечения длительностью 18 месяцев. Период последующего наблюдения представлял собой период после окончания периода двойного слепого лечения длительностью 8 недель.

Выбор пациентов.

Данное исследование разрабатывали, чтобы рандомизировать примерно 2100 пациентов с отношением рандомизации 2:1 в отношении следующего: алирокумаб: - примерно 1400 пациентов; плацебо - примерно 700 пациентов.

Пациентов, удовлетворяющих следующим критериям, рассматривали для включения в исследование:

1) пациентов с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией (heFH)* с установленным коронарным заболеванием сердца (CHD) или эквивалентами риска возникновения CHD или без них, которые резистентны к максимально переносимой стабильной ежедневной дозе статина** на протяжении по меньшей мере 4 недель до визита для отбора (неделя -3) с другой липид-корригирующей терапией (LMT) или без нее; или

2) пациентов с гиперхолестеролемией и установленными CHD или эквивалентами риска возникновения CHD (для определений см. в данном документе/ниже), которые были резистентны к максимально переносимой стабильной ежедневной дозе статина** на протяжении по меньшей мере 4 недель до визита для отбора (неделя -3) с другой липид-корригирующей терапией (LMT) или без нее.

* Диагноз heFH должен был быть поставлен либо на основании генотипирования, либо по клиническим критериям. Для тех пациентов, которых не генотипировали, клинический диагноз мог быть основан либо на критериях WHO/Голландских критериях диагностики гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии (Dutch Lipid Clinical Network) с показателем >8 пунктов, либо на диагностических критериях регистра Саймона Брума с критерием для определенной FH.

** Определение максимально переносимой дозы, где любое из следующего было допустимо:

1) розувастатина 20 или 40 мг ежедневно;

2) аторвастатина 40 или 80 мг ежедневно;

3) симвастатина 80 мг ежедневно (если уже на этой дозе на протяжении >1 г.);

4) пациентов, не способных переносить ни одну из вышеперечисленных доз статинов, следует ле-

чить дозой ежедневного аторвастатина, розувастатина или симвастатина, которая считалась подходящей для пациента исходя из оценки и опасений исследователя.

Некоторые примеры допустимых причин для пациента, принимающего более низкие дозы статинов, включали без ограничения побочные эффекты при более высоких дозах, преклонный возраст, низкий индекс массы тела, региональная врачебная практика, местный листок-вкладыш, сопутствующие медицинские препараты, сопутствующие состояния, такие как нарушенная толерантность к глюкозе/нарушенный уровень глюкозы в крови натощак.

Подтвержденная история СНД включала один или несколько из следующих критериев:

- i) острый инфаркт миокарда (MI);
- ii) бессимптомный инфаркт миокарда;
- iii) нестабильная стенокардия;

iv) процедура реваскуляризации коронарных сосудов (например, чрескожная коронарная ангиопластика [PCI] или шунтирование коронарных артерий [CABG]); и/или

v) клинически значимое СНД, диагностированное при помощи инвазивных или неинвазивных обследований (таких как коронарография, электрокардиограмма с нагрузкой на беговой дорожке, стресс-эхокардиография или радионуклидная визуализация).

Эквиваленты риска возникновения СНД включали один или несколько из следующих четырех критериев:

i) подтвержденное заболевание периферических артерий, где один из следующих критериев (а, б или с) должны быть удовлетворены:

а) текущая перемежающаяся хромота (мышечный дискомфорт в нижней конечности, который является как повторяющимся, так и проявляющимся при физических нагрузках и облегчаемым при покое в течение 10 минут) предполагаемого атеросклеротического происхождения вместе с лодыжечно-брахиальным индексом $<0,90$ в любой ноге в состоянии покоя, или

б) история перемежающейся хромоты (мышечный дискомфорт в нижней конечности, который является как повторяющимся, так и проявляющимся при физических нагрузках и облегчаемым при покое в течение 10 минут) вместе с эндоваскулярной процедурой или хирургическим вмешательством по отношению к одной или обеим ногам по причине атеросклеротического заболевания, или

с) история критической ишемии конечностей вместе с тромболизисом, эндоваскулярной процедурой или хирургическим вмешательством по отношению к одной или обеим ногам по причине атеросклеротического заболевания;

ii) подтвержденный предыдущий ишемический инсульт с фокальным ишемическим неврологическим расстройством, которое продолжалось более 24 ч, предположительно, атеротромботического происхождения, причем СТ или MRI необходимо было провести для исключения кровотечения или неишемического неврологического заболевания;

iii) подтвержденное хроническое заболевание почек средней тяжести (CKD), характеризующееся $30 \leq eGFR <60$ мл/мин/1,73 м² в течение 3 месяцев или более, включая визит для отбора;

iv) известная история сахарного диабета и два или более дополнительных фактора риска, которые перечислены ниже:

- а) история гипертензии (установленной по медицинским препаратам против гипертензии),
- б) подтвержденная история лодыжечно-брахиального индекса $\leq 0,90$,
- в) подтвержденная история микроальбуминурии или макроальбуминурии или анализ мочи с помощью индикаторной полоски при визите для отбора (неделя -3) с уровнем белка $>2+$,
- г) подтвержденная история предпролиферативной или пролиферативной ретинопатии или лазерного лечения ретинопатии,
- д) известное из семейного анамнеза раннее развитие СНД (СНД у отца или брата в возрасте до 55 лет; СНД у матери или сестры в возрасте до 65 лет).

Согласно диагностическим критериям регистра Саймона Брума для гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии определенная семейная гиперхолестеринемия характеризовалась уровнями общего-С $>6,7$ ммоль/л (260 мг/дл) или холестерина LDL выше 4,0 ммоль/л (155 мг/дл) у ребенка <16 лет или уровнями общего-С $>7,5$ ммоль/л (290 мг/дл) или холестерина LDL выше 4,9 ммоль/л (190 мг/дл) у взрослого (уровни как перед лечением, так и наивысшие при лечении), плюс сухожильные ксантомы у пациента или у ближайшего родственника (родителя, родных брата или сестры, ребенка), или у родственника 2 степени (прапородителя, дяди, тети), или доказательство, основанное на ДНК, мутации рецептора LDL или семейного дефективного Аро В-100.

Таблица 1

Диагностическое оценивание для гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии		
Семейный анамнез		
а. Ближайший родственник (мужчины <55 лет, женщины <60 лет) с известным ранним развитием сердечно-сосудистым заболеванием		1
б. Ближайший родственник с известным уровнем холестерина LDL >95-го перцентиля для возраста и пола.		
и/ или		
а. Ближайший родственник с сухожильными ксантомами и/или роговичной дуги		2
б. Дети до 18 лет с уровнем холестерина LDL >95-го перцентиля для возраста и пола.		
Клинический анамнез		
а. Пациент (мужчины <55 лет, женщины <60 лет) с ранним развитие ишемической болезни сердца.		2
б. Пациент (мужчины <55 лет, женщины <60 лет) с ранним развитием церебрального или периферическим сосудистым заболеванием.		1
Физический осмотр		
а. Сухожильные ксантомы		6
б. Роговичная дуга в возрасте до 45 лет.		4
Лабораторный анализ		
ммоль/л	мг/дл	
а Уровень холестерина LDL >8,5	>330	8
б Уровень холестерина LDL 6,5-8,4	250-329	5
с Уровень холестерина LDL 5,0-6,4	190-249	3
д Уровень холестерина LDL 4,0-4,9	155-189	1
(Уровень холестерина HDL и триглицеридов в норме)		
Анализ ДНК		
а. Наличие функциональная мутация гена рецептора липопротеинов низкой плотности		8
Диагноз heFH:		
Однозначный при	>8 баллах	
Вероятный при	6-8 баллах	
Возможный при	3-5 баллах	

Согласно диагностическим критериям регистра Саймона Брума для гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии возможная семейная гиперхолестеринемия характеризовалась уровнями общего-С >6,7 ммоль/л (260 мг/дл) или холестерина LDL выше 4,0 ммоль/л (155 мг/дл) у ребенка <16 лет или уровнями общего-С >7,5 ммоль/л (290 мг/дл) или холестерина LDL выше 4,9 ммоль/л (190 мг/дл) у взрослого (уровни как перед лечением, так и наивысшие при лечении) и по меньшей мере одним из следующего: семейным анамнезом инфаркта миокарда в возрасте до 50 лет у родственника 2 степени или в возрасте до 60 лет у ближайшего родственника или семейным анамнезом повышенных уровней холестеринов >7,5 ммоль/л (290 мг/дл) у взрослого ближайшего родственника или родственника 2 степени или >6,7 ммоль/л (260 мг/дл) у ребенка или родных брата или сестры в возрасте до 16 лет.

Критерии WHO (Голландские диагностические критерии гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии) для постановки диагноза гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии (heFH) изложены в табл. 1.

Пациентов, которые соответствовали всем вышеперечисленным критериям включения, выбирали по перечисленным ниже критериям исключения.

Критериями исключения, относящимися к методологии исследования, были

- 1) отсутствие установленной истории CHD или эквивалентов риска возникновения CHD или отсутствие диагноза heFH на основе генотипирования или клинических критериев;
- 2) уровень LDL-C <70 мг/дл (<1,81 ммоль/л) на момент визита для отбора (неделя -3);
- 3) отсутствие стабильной дозы LMT (включая статин) на протяжении по меньшей мере 4 недель и/или фенофибрата на протяжении по меньшей мере 6 недель в зависимости от обстоятельств, до визита для отбора (неделя -3) и от момента отбора до рандомизации;
- 4) принятие в данный момент статина, отличного от симвастатина, аторвастина или розувастатина;
- 5) симвастатин, аторвастиatin или розувастатин принимается не ежедневно или принимается не в указанной дозе;
- 6) ежедневные дозы аторвастина выше 80 мг, розувастатина выше 40 мг или симвастатина выше

40 мг (кроме пациентов, принимающих 80 мг симвастатина на протяжении более 1 г., которые способны ее перенести);

7) применение фибраторов, отличных от фенофибрата, в течение 6 недель до визита для отбора (неделя -3) или между визитами для отбора и рандомизации;

8) применение нутрицевтических продуктов или безрецептурных терапевтических средств, которые могут воздействовать на уровень липидов, не вводимых в стабильной дозе на протяжении по меньшей мере 4 недель до визита для отбора (неделя -3) или между визитами для отбора и рандомизации;

9) применение продуктов на основе красного ферментированного риса в течение 4 недель до визита для отбора (неделя -3) или между визитами для отбора и рандомизации;

10) пациент, который получал лечение плазмаферезом в течение 2 месяцев до визита для отбора (неделя -3) или собирается получать его;

11) недавние (в пределах 3 месяцев до визита для отбора (неделя -3) или между визитами для отбора и рандомизации) MI, нестабильная стенокардия, приведшая к госпитализации, неконтролируемая сердечная аритмия, CABG, PCI, операция или стентирование сонной артерии, апоплексический удар, транзиторная ишемическая атака (ТИА), эндоваскулярная процедура или хирургическое вмешательство при заболевании периферических сосудов;

12) запланированные к перенесению намеченные PCI, CABG, реваскуляризация сонной артерии или периферическая реваскуляризация во время исследования;

13) история сердечной недостаточности III или IV класса согласно Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (New York Heart Association) (NYHA) в течение последних 12 месяцев;

14) систолическое кровяное давление >180 мм рт.ст. или диастолическое кровяное давление >110 мм рт.ст. на момент визита для отбора или визита для рандомизации;

15) известная история геморрагического инсульта;

16) возраст <18 лет или совершеннолетия на момент визита для отбора (неделя -3) в зависимости от того, какой возраст больше;

17) известная история активного заболевания оптического нерва;

18) пациенты, ранее не получившие указания в отношении гипохолестеринемической диеты до визита для отбора (неделя -3);

19) известная история гомозиготной FH;

20) известная история потери функции PCSK9 (т.е. генетическая мутация или изменчивость последовательности);

21) применение системных кортикоステроидов, если только не применяемых в качестве заместительной терапии при заболевании гипофиза/надпочечников с постоянным режимом в течение по меньшей мере 6 недель до рандомизации; примечание: стероидные терапевтические препараты для местного, внутрисуставного, назального, ингаляционного и офтальмического применения не рассматриваются в качестве "системных" и разрешены;

22) применение непрерывной заместительной гормональной терапии, если только режим не был постоянным последние 6 недель до визита для отбора (неделя -3) и не было планов изменить режим во время исследования;

23) история рака в течение последних 5 лет за исключением излеченного до той меры, до которой это возможно, базально-клеточного или плоскоклеточного рака кожи или рака шейки матки *in situ*;

24) известная история положительной пробы на HIV;

25) состояния/ситуации, такие как

а) любое клинически значительное нарушение, идентифицированное во время отбора, которое по мнению исследователя или любого соисследователя сделало бы невозможным безопасное завершение исследования или ограничило оценку конечных точек, такое как основные системные заболевания, пациенты с короткой ожидаемой продолжительностью жизни,

б) пациенты, считающиеся исследователем или любым соисследователем как неподходящие для данного исследования по какой-либо причине, например

и) те, которые считаются неспособными соответствовать определенным требованиям протокола, таким как запланированные визиты,

ii) те, которым нельзя ввести или которые неспособны переносить долговременные инъекции по мнению пациента или исследователя,

iii) исследователь или любой соисследователь, фармацевт, координатор исследования, другой персонал, участвующий в исследовании, или их родственник, непосредственно участвующий в ведении протокола и т.п.,

iv) при наличии каких-либо других условий (например, географических, социальных и т.п.), фактических или предполагаемых, которые, как считает исследователь, сдерживали бы или ограничивали бы участие пациента в течение всей продолжительности исследования;

26) пациент, который прежде проходил лечение по меньшей мере с помощью одной дозы алирокумаба или любого другого моноклонального антитела к PCSK9 в других клинических исследованиях;

27) пациент, который получал любые экспериментальные лекарственные средства, которые отли-

чаются от подготовительных плацебо-наборов алирокумаба в течение 1 месяца или 5 периодов полуыведения в зависимости от того, что длится дольше;

28) пациент, который отзывает согласие во время периода отбора (пациент, который не желает продолжать или не возвращается);

29) лабораторные показатели в течение периода отбора (не включая лабораторных исследований при рандомизации), а именно:

А) положительный тест на поверхностный антиген вируса гепатита В и/или антитело к вирусу гепатита С (подтвержденный повторным анализом),

В) уровень триглицеридов (TG) >400 мг/дл ($>4,52$ ммоль/л) (допускается 1 повторное лабораторное исследование),

С) положительный сывороточный тест или тест мочи на беременность у женщин со способностью к деторождению,

Д) уровень eGFR <30 мл/мин/1,73 m^2 согласно уравнению с 4 переменными MDRD,

Е) уровень HbA1c $>10\%$,

F) уровень ALT или AST $>3 \times$ ULN (допускается 1 повторное лабораторное исследование),

Г) уровень СРК $>3 \times$ ULN (допускается 1 повторное лабораторное исследование).

Критериями исключения, которые относятся к активным препаратам сравнения и/или видам обязательной фоновой терапии, были

30) все противопоказания по отношению к видам фоновой терапии или предупреждения/меры предосторожности по применению (при необходимости), представленные в соответствующей национальной маркировке продукта.

Критериями исключения, которые относятся к современному уровню знаний относительно алирокумаба, были

31) известная гиперчувствительность к терапевтическим средствам на основе моноклональных антител;

32) беременные или кормящие грудью женщины;

33) женщины со способностью к деторождению, не защищенные высокоэффективным (высокоэффективными) способом (способами) контроля рождаемости и/или не желающие или не способные пройти тест на беременность.

Примечание. Женщины со способностью к деторождению должны были подтвердить отрицательный сывороточный тест на беременность на момент отбора и тест мочи на беременность на момент визита для рандомизации. Они должны были использовать эффективные способы контрацепции на протяжении исследования и согласиться повторно пройти тест мочи на беременность во время предусмотренных визитов. Используемые способы контрацепции должны были соответствовать критериям высокоэффективного способа контроля рождаемости согласно "примечанию к руководству по клинических исследований безопасности для проведения клинических испытаний на людях в отношении фармацевтических препаратов (CPMP/ICH/286/95)". Женщины в период менопаузы должны были быть аменорейными на протяжении по меньшей мере 12 месяцев.

Исследуемые виды лечения.

Стерильный лекарственный продукт алирокумаба (IMP) вводили в концентрации 150 мг/мл в виде 1 мл. На протяжении периода двойного слепого лечения вводили алирокумаб или плацебо подкожно в виде 1 мл инъекции каждые 2 недели, начиная с 0 недели, продолжая вплоть до последней инъекции (т.е. 76 недели), что было на 2 неделе до окончания периода двойного слепого лечения.

Следующие классы лекарственных средств идентифицировали как неизучаемые медицинские продукты (NIMP), потому что медицинский препарат представлял собой либо фоновую терапию, либо медицинский препарат для возможной неотложной терапии: статины (розувастатин, аторвастатин, симвастатин); ингибиторы абсорбции холестерина (эзетимиб); секвестранты, связывающие желчные кислоты (например, холестирамин, колестипол, колесевелам); никотиновую кислоту; фенофибрат; омега-3 жирные кислоты (≥ 1000 мг ежедневно).

Пациентов рандомизировали, чтобы вводить либо плацебо, либо алирокумаб во время периода двойного слепого исследуемого лечения. Отношение рандомизации алирокумаб:плацебо составляло 2:1. При рандомизации проводили разделение согласно популяции с heFH (да, нет), предыдущей истории острого или бессимптомного МИ или ишемического инсульта (да, нет), лечению статинами (аторвастатином - 40-80 мг ежедневно или розувастатином - 20-40 мг ежедневно против симвастатина с любой ежедневной дозой, аторвастатина с дозой ниже 40 мг ежедневно или розувастатина с дозой ниже 20 мг ежедневно) и региону (Северная Америка, Западная Европа, Восточная Европа и остальные страны).

Сопутствующий медицинский препарат представлял собой любое лечение, получаемое пациентом одновременно с исследованием (до визита последующего наблюдения). В ходе исследования прием сопутствующих медицинских препаратов должен быть сведен к минимуму. Однако при необходимости для благополучия пациента и при малой вероятности нарушения действия посредством IMP их можно давать на усмотрение исследователя в постоянной дозе (по возможности). Кроме конкретной информации, от-

носящейся к сопутствующим медицинским препаратам, предоставленной в данном разделе, будет разрешен и будет фиксироваться любой другой сопутствующий медицинский препарат (медицинские препараты). Если пациент имел уровень LDL-C ≥ 160 мг/дл (4,14 ммоль/л) на момент визита для отбора (неделя -3) и проходил лечение только статином, т.е. без дополнительной LMT, то исследователю необходимо сообщить о причине, по которой пациент не проходил вторую LMT. Нутрицевтические продукты или безрецептурные терапевтические средства, которые могут оказывать влияние на уровни липидов, разрешали лишь в том случае, если их применяли в постоянной дозе в течение по меньшей мере 4 недель до визита для отбора, во время периода отбора и продолжали принимать в ходе первых 24 недель периода двойного слепого лечения. После визита на 24 неделе изменение данных нутрицевтических продуктов или безрецептурных терапевтических средств разрешали, но в целом его следует избегать. Примеры таких нутрицевтических продуктов или безрецептурных терапевтических средств включали омега-3 жирные кислоты в дозах <1000 мг, растительные станолы, такие как встречающиеся в бенеколе, льняном масле и подорожнике.

Пациенты находились на максимально переносимых ежедневных регистрируемых дозах статинов с другой липид-корригирующей терапией на протяжении лечения или без нее. С момента визита для отбора (неделя -3) до первых 24 недель периода двойного слепого лечения (неделя 24) не следует менять новую липид-корригирующую терапию. На протяжении этого времени не должны иметь место коррекция дозы, прекращение или начало получения других статинов или другой липид-корригирующей терапии за исключением чрезвычайных случаев, при которых основные причины озабоченности (в том числе без ограничения предупреждения об уровне триглицеридов, представленного центральной лабораторией) оправдывали бы такие изменения на усмотрение исследователя.

Не разрешали следующие виды терапии на протяжении исследования (включая период отбора вплоть до визита и последующего наблюдения): фибраты, кроме фенофибрата, продукты на основе красного ферментированного риса и статин, кроме симвастатина, аторвастатина или розувастатина.

Оценка безопасности.

Безопасность оценивали по следующим параметрам:

регистрации нежелательных явлений (включая установленные сердечно-сосудистые события);

результатам стандартных лабораторных тестов (гематологическому, химическому анализам и анализу мочи);

результатам печеночной пробы (уровням ALT, AST, щелочной фосфатазы [ALP] и общего билирубина);

уровню креатинфосфокиназы (CPK); анализу на антитело к вирусу гепатита С (если положительный, то затем подтверждали повторным анализом);

уровню витамина Е (альфа-токоферола) и других жирорастворимых витаминов;

уровню кортизола (с подтвержденными повторным анализом уровнями АСТН, если необходимо, и последующей стимуляционной пробой АСТН, если необходимо);

оценке половых гормонов;

электрокардиограмме (ЭКГ);

показателям жизненно важных функций (систолическому и диастолическому кровянистому давлению и частоте сердцебиений);

медицинскому осмотру (включая нейрологическое исследование);

прроверке цветового зрения (в виде теста при отборе или более тщательного офтальмологического тестирования, если необходимо).

Параметры безопасности (нежелательные явления (включая установленные сердечно-сосудистые события), лабораторные данные, показатели жизненно важных функций и ЭКГ) оценивали в течение исследования.

Конечными точками безопасности, оцененными в данном испытании, являлись следующие сердечно-сосудистые события:

аллергические явления;

местная переносимость в месте инъекции;

другие нежелательные явления (включая гемолитическую анемию);

результаты лабораторных тестов: анализа мочи, гематологического теста (подсчета количества эритроцитов, распределения эритроцитов по объему (RDW), количества ретикулоцитов, уровня гемоглобина, гематокритного числа, количества тромбоцитов, подсчета количества лейкоцитов с дифференциальным подсчетом лейкоцитов), стандартных химических тестов (уровней натрия, калия, хлора, бикарбоната, кальция, фосфора, азота мочевины, креатинина, мочевой кислоты, общего белка, альбумина, LDH, γ -глютамилтрансферазы (γ GT)), уровня витамина Е (альфа-токоферола) и других жирорастворимых витаминов, уровня кортизола (и подтвержденного повторного анализа уровней АСТН, если необходимо, и последующей стимуляционной пробы АСТН, если необходимо), оценки половых гормонов, анализа на антитело к вирусу гепатита С, печеночной пробы (уровней ALT, AST, ALP и общего билирубина) и уровня CPK;

показатели жизненно важных функций, включая частоту сердцебиений и кровяное давление; и ЭКГ в 12 отведениях.

Результаты I - анализ с предварительно заданными параметрами.

Обобщенные характеристики популяции.

Проводили промежуточный анализ с предварительно заданными характеристиками, когда все пациенты достигали периода лечения в 1 г. и примерно 25% пациентов достигали периода лечения в 18 месяцев. В общем рандомизировали 2341 пациента в данном исследовании (1553 в группе с алирокумабом против 788 в группе с плацебо). Исходные характеристики популяции пациентов в данном анализе с предварительно заданными параметрами изложены в табл. 2. 17,7% пациентов имели HeFH с установленным CHD или эквивалентами риска возникновения CHD или без них. 82,3% пациентов включили с гиперхолестерolemии несемейного происхождения с установленным CHD или эквивалентами риска возникновения CHD. Подавляющее большинство рандомизированной популяции (90,6%) имели историю коронарного заболевания сердца (CHD) или эквивалентов риска возникновения CHD. CHD регистрировали у 68,6% пациентов (см. табл. 2).

Демографические характеристики, характеристики заболеваний и параметры уровней липидов на исходном уровне были похожи у группы с алирокумабом при сравнении с группой с плацебо. Среднее значение (SD) рассчитанного исходного уровня LDL-C составляло 122,4 (42,2) мг/дл (3,171 (1,092) ммоль/л). Принимая во внимание фоновую липид-корригирующую терапию, 1032 (44,1%) пациентов принимали статины в высокой дозе при рандомизации (т.е. аторвастатин в дозе 40-80 мг или розувастатин в дозе 20-40 мг ежедневно) и 334 (14,3%) получали эзетимиб в дополнение к статину (см. табл. 2).

Таблица 2. Исходные характеристики

Характеристика	Алирокумаб (n=1553)	Плацебо (n=788)
Возраст, лет, среднее значение (SD)	60,4 (10,4)	60,6 (10,4)
Мужской	63,3% (983)	60,2% (474)
Расовая принадлежность, белые	92,8% (1441)	92,6% (730)
BMI, кг/м ² , среднее значение (SD)	30,2 (5,7)	30,5 (5,5)
HeFH	17,8% (276)	17,6% (139)
История CHD	67,9% (1055)	70,1% (552)
Эквивалент риска возникновения CHD [†]	41,1% (639)	41,2% (325)
Сахарный диабет 2 типа	34,9% (542)	33,9% (267)
Любой статин [‡] , % (n)	99,9% (1552)	99,9% (787)
Статин в высокой дозе [‡]	44,4% (690)	43,4% (342)
Любая LLT, отличная от статинов, % (n)	28,1% (437)	27,9% (220)
Эзетимиб, % (n)	13,9% (216)	15,0% (118)
Уровень LDL-C (рассчитанный)	3,2 (1,1)	3,2 (1,1)
Среднее значение (SD), ммоль/л [мг/дл]	122,7 (42,6)	121,9 (41,4)
Уровень не-HDL-C, среднее значение (SD), ммоль/л [мг/дл]	4,0 (1,2) [152,6 (46,6)]	3,9 (1,2) [152,0 (45,8)]
Уровень Апо B, среднее значение (SD), мг/дл	101,9 (27,7)	101,4 (27,3)
Уровень Lp(a), мг/дл, медианное значение (IQR)	22,2 (7,6:66,5)	20,9 (6,5:66,8)

% (n) пациентов помимо указанных.

Все пациенты с фоном в виде максимально переносимой терапии статинами±другой гиполипидемической терапии.

[†] Пациенты должны получать либо розувастатин в дозе 20-40 мг, аторвастатин в дозе 40-80 мг ежедневно, либо симвастатин в дозе 80 мг ежедневно, если только не являются непереносимыми и/или давали подходящую другую дозу на усмотрение исследователя.

[‡] Статин в высокой дозе: аторвастатин в дозе 40-80 мг или розувастатин в дозе 20-40 мг ежедневно.

Воздействие инъекций было похожим среди групп лечения с медианным значением воздействия 68 недель. К дате завершения анализа с предварительно заданными параметрами 607 (25,9%) пациентов завершили 18-месячный период двойного слепого лечения (т.е. по меньшей мере 76-недельное воздействие и завершающий визит на 78 неделе), включая по меньшей мере 400 пациентов в группе с алирокумабом, по договоренности с органами здравоохранения во время консультации относительно встречи по

окончанию второй фазы: 405 пациентов (26,1%) в группе с алирокумабом и 202 пациента (25,6%) в группе с плацебо.

Распределение участников исследования, воздействие и анализы безопасности оценивали с использованием всех данных на момент общей даты завершения исследования, и они, следовательно, включали данные после 52 недели и вплоть до 78 недели или вплоть до визита последующего наблюдения. Окончательные результаты первичной конечной точки эффективности (на 24 неделе) и основные вторичные конечные точки эффективности (оцененные вплоть до 52 недели) предоставлены в данном анализе первой стадии.

Всего было 525 (22,4%) рандомизированных пациентов, которые завершили данный период исследуемого лечения вплоть до даты завершения, т.е. когда делали последнюю инъекцию IMP (76 неделя) и участвовали в последнем визите в целях лечения (78 неделя) в течение 21 дня после последней инъекции IMP и по меньшей мере 525 дней после рандомизации.

В группе с алирокумабом 1550 из 1553 действительно получали алирокумаб. 23% (n=349) этих пациентов прошли 78 недель, 20% (n=311) прекратили лечение и 57% (n=890) еще находились в процессе лечения. Популяции для оценки безопасности ITT для группы с алирокумабом состояли из 1530 и 1550 пациентов соответственно. В группе с плацебо все 788 получали плацебо. 22% (n=176) этих пациентов прошли 78 недель, 19% (n=146) прекратили лечение и 59% (n=466) еще находились в процессе лечения. Популяции для оценки безопасности ITT для группы с алирокумабом состояли из 780 и 788 пациентов соответственно.

Первичная конечная точка эффективности.

Анализ в отношении пациентов, начавших получать лечение (ITT), включает все значения LDL-C, полученные в ходе лечения и во время перерывов в лечении вплоть до недели 52. Анализ первичной конечной точки (процентное изменение рассчитанных уровней LDL-C от исходного значения до 24 недели) представлен на основе модели MMRM в отношении популяции ITT с использованием показателей LS средних значений на 24 неделе. Для 146 (9,5%) пациентов в группе алирокумаба и 72 (9,2%) пациентов в группе плацебо не было получено рассчитанное значение LDL-C на 24 неделе. Эти отсутствующие значения учитывали при помощи модели MMRM.

Было обнаружено статистически значимое процентное снижение уровня LDL-C от исходного значения до 24 недели в группе алирокумаба (N=1530; LS среднее значение по сравнению с исходным значением -61,0%) в сравнении с группой плацебо (N=780; среднее значение LS по сравнению с исходным значением 0,8%) (различие для LS среднего значения по сравнению с плацебо -61,9%, p<0,0001).

В группе алирокумаба обнаружили сопоставимое снижение уровня LDL-C от исходного значения от 4 недели до 52 недели (см. фиг. 3). Доля пациентов с очень высоким сердечно-сосудистым риском, у которых был достигнут рассчитанный уровень LDL-C менее 70 мг/дл или пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском, у которых был достигнут рассчитанный уровень LDL-C менее 100 мг/дл, составляла 80,7% в группе алирокумаба и 8,5% в группе плацебо (p<0,001). Доля пациентов, у которых был достигнут рассчитанный уровень LDL-C менее 70 мг/дл, вне зависимости от риска составляла 79,3% в группе алирокумаба и 8,0% в группе плацебо (p<0,001).

Группа алирокумаба также характеризовалась значительным снижением уровней не-HDL-C, Apo B и Lp(a) относительно плацебо на 24 неделе (см. фиг. 5).

Обобщенные результаты относительно безопасности.

Во время анализа с предварительно заданными параметрами процентные доли пациентов, которые испытывали нежелательные явления, возникшие в ходе лечения (TEAE), серьезные TEAE и TEAE, приводящие к прекращению лечения, были сходными в разных группах лечения.

Наиболее часто описываемыми SOC в обеих группах лечения ($\geq 10\%$) были "инфекции и паразитарные заболевания" (45,5% в группе алирокумаба по сравнению с 46,1% в группе плацебо), "нарушения со стороны костно-мышечной и соединительной тканей" (27,2% в группе алирокумаба по сравнению с 28,6% в группе плацебо), "нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта" (18,6% в группе алирокумаба по сравнению с 18,8% в группе плацебо), "нарушения со стороны нервной системы" (17,0% в группе алирокумаба по сравнению с 17,8% в группе плацебо), "общие нарушения и нарушения в месте введения" (15,4% в группе алирокумаба по сравнению с 17% в группе плацебо), "травмы, отравления и осложнения, вызванные проведением процедур" (13,4% в группе алирокумаба по сравнению с 14,2% в группе плацебо) и "нарушения со стороны дыхательной системы, органов грудной клетки и средостения" (11,0% в группе алирокумаба по сравнению с 10,9% в группе плацебо).

Не было обнаружено никакого дисбаланса относительно частоты TEAE (см. табл. 3). Следующие TEAE были наиболее часто описываемыми в любой группе лечения ($\geq 5\%$ в любой группе): назофарингит (12,6% в группе алирокумаба по сравнению с 12,7% в группе плацебо), инфекция верхних дыхательных путей (7,0% по сравнению с 8,0%), реакция в месте инъекции (5,7% по сравнению с 4,3%), грипп (5,4% по сравнению с 5,5%), диарея (5,3% по сравнению с 5,1%), инфекция мочевыводящих путей (5,2% по сравнению с 6,2%), бронхит (5,2% по сравнению с 4,7%) и головная боль (4,8% по сравнению с 5,6%).

Таблица 3

Обзор профиля нежелательных явлений. Нежелательные явления, возникшие в ходе лечения - популяция для оценки безопасности (во время анализа с предварительно заданными параметрами)

n (%)	Плацебо (N=788)	Алирокумаб 150 Q2W (N=1550)
Пациенты с каким-либо TEAE	635 (80,6%)	1218 (78,6%)
Пациенты с любыми серьезными нежелательными явлениями, возникшими в ходе лечения	139 (17,6%)	255 (16,5%)
Пациенты с каким-либо TEAE, приведшим к смерти	8 (1,0%)	7 (0,5%)
Пациенты с каким-либо TEAE, приведшим к окончательному прекращению лечения	43 (5,5%)	96 (6,2%)

n (%)=число и процентная доля пациентов по меньшей мере с одним TEAE.

Было сообщено о девятнадцати (19) случаях смерти на протяжении исследования (11 (0,7%) в группе алирокумаба по сравнению с 8 (1,0%) в группе плацебо). Учитывая TEAE, приведшие к смерти, было сообщено о 7 (0,5%) случаях смерти в группе алирокумаба по сравнению с 8 (1,0%) в группе плацебо. Согласно экспертному заключению основная причина смерти была связана с сердечно-сосудистой системой в обеих группах лечения (на протяжении периода TEAE 5 (0,3%) случаев смерти по причине сердечно-сосудистой патологии в группе алирокумаба по сравнению с 5 (0,6%) в группе плацебо).

У девяносто четырех (94) пациентов были положительно установлены возникшие в ходе лечения сердечно-сосудистые события (4,0% в группе алирокумаба и 4,1% в группе плацебо). В таблице 4 представлены любые сердечно-сосудистые TEAE согласно экспертному заключению. В таблице 5 обобщены установленные сердечно-сосудистые TEAE с использованием первичной конечной точки CVOT (ODYSSEY OUTCOMES) для исследования (т.е. смерть от CHD, несмертельный MI, смертельный и несмертельный ишемический инсульт, нестабильная стенокардия, при которой требуется госпитализация).

Примечательно, что на момент закрытия доступа к базе данных процесс составления экспертного заключения все еще продолжался.

Таблица 4

Обобщенные сердечно-сосудистые TEAE согласно экспертному заключению - популяция для оценки безопасности (во время анализа с предварительно заданным параметрами)

Категория экспертного заключения n (%)	Плацебо (N=788)	Алирокумаб 150 Q2W (N=1550)
Любые пациенты с возникшими в ходе лечения сердечно-сосудистыми событиями, подтвержденными экспертым заключением	32 (4,1%)	62 (4,0%)
Смерть от CHD (включая неопределенные причины)	5 (0,6%)	3 (0,2%)
Несмертельный MI	16 (2,0%)	10 (0,6%)
Смертельный и несмертельный ишемический инсульт (включая инсульт без дополнительных уточнений)	2 (0,3%)	8 (0,5%)
Нестабильная стенокардия, при которой требуется госпитализация	1 (0,1%)	0
Застойная сердечная недостаточность, при которой требуется госпитализация	3 (0,4%)	9 (0,6%)
Процедура реваскуляризации коронарных сосудов по причине ишемии	19 (2,4%)	39 (2,5%)

Таблица 5

Обобщенные сердечно-сосудистые TEAE согласно экспертному заключению (первичная конечная точка CVOT исследования) - популяция для оценки безопасности (во время анализа с предварительно заданными параметрами)

Категория экспертного заключения n (%)	Плацебо (N=788)	Алирокумаб 150 Q2W (N=1550)
Любые пациенты с возникшими в ходе лечения сердечно-сосудистыми событиями, подтвержденными экспертным заключением (первичная конечная точка CVOT)	24 (3,0%)	22 (1,4%)
Смерть от CHD (включая неопределенные причины)	6 (0,8%)	3 (0,2%)
Несмертельный МИ	17 (2,2%)	11 (0,7%)
Смертельный и несмертельный ишемический инсульт (включая инсульт без дополнительных уточнений)	2 (0,3%)	8 (0,5%)
Нестабильная стенокардия, при которой требуется госпитализация	1 (0,1%)	0

В ретроспективном анализе на основе модели Кокса показатель установленных серьезных сердечно-сосудистых событий (сердечная смерть, инфаркт миокарда, ишемический инсульт и нестабильная стенокардия, при которой требуется госпитализация) составлял 1,4% в группе алирокумаба по сравнению с 3,0% для группы плацебо (номинальное значение $P=0,0089$), отношение рисков (HR)=0,46 (95% CI: 0,26-0,82) (см. фиг. 4).

В совокупности промежуточный анализ безопасности исходя из данного исследования показал меньшее количество установленных серьезных сердечно-сосудистых событий в группе алирокумаба в сравнении с плацебо. В частности, уровень установленных серьезных CV событий (сердечная смерть, инфаркт миокарда, инсульт и нестабильная стенокардия, при которой требуется госпитализация) был примерно на 50% ниже в группе алирокумаба в сравнении с плацебо (1,4% в сравнении с 3,0%, $p<0,01$) (см. табл. 5).

Объем настоящего изобретения не ограничен конкретными вариантами осуществления, описанными в данном документе. Действительно различные модификации настоящего изобретения, помимо описанных в данном документе, будут очевидны специалистам в данной области техники исходя из изложенного выше описания и прилагаемых фигур. Такие модификации находятся в пределах объема прилагаемой формулы изобретения.

Общее резюме для анализа с предварительно заданными параметрами.

Исследование ODYSSEY LONG TERM, описанное в данном документе, представляет собой наиболее масштабное и продолжительное двойное слепое исследование ингибитора PCSK9. Данный анализ предусматривает приблизительно 1900 пациенто-лет двойного слепого воздействия на пациентов с использованием 150 мг алирокумаба Q2W. Следующие наблюдения были сделаны в отношении пациентов с высоким риском CV с максимально переносимой терапией статинами \pm другой гиполипидемической терапией:

1) осуществляемое самостоятельно лечение алирокумабом привело к значительно большему снижению уровня LDL-C по сравнению с плацебо на 24 неделе (различие для LS среднего значения -61,9%);

2) у 79% пациентов с алирокумабом был достигнут целевой уровень LDL-C <0,81 ммоль/л (70 мг/дл) на 24 неделе вне зависимости от группы риска; у 81% пациентов с высоким риском и очень высоким риском был достигнут целевой уровень LDL-C (<100 мг/дл и <70 мг/дл соответственно);

3) средние достигнутые уровни LDL-C составляли 1,4 ммоль/л (53,1 мг/дл) на 52 неделе с использованием алирокумаба;

4) более низкий показатель установленных серьезных CV событий наблюдали в группе алирокумаба по сравнению с плацебо в ретроспективном анализе;

5) TEAE имели место со сходной частотой в группах алирокумаба и плацебо;

6) возникшие в ходе лечения сердечно-сосудистые (CV) события были положительно установлены у 4,0% и 4,4% пациентов с алирокумабом и плацебо соответственно; и

7) более низкий уровень установленных серьезных CV событий наблюдали в группе алирокумаба по сравнению с плацебо в ретроспективном анализе (HR=0,46, $P<0,01$).

Результаты II - итоговый анализ безопасности.

Хотя все первичные и вторичные конечные точки эффективности были достигнуты к моменту про-

межуточного анализа с предварительно заданными параметрами, исследование продолжали до завершения, что дало возможность провести анализ популяции для оценки безопасности.

Обобщенные характеристики популяции для оценки безопасности.

Средний показатель воздействия исследуемого лекарственного средства составлял 70 недель для 2338 пациентов, включенных в анализ безопасности (1550 в группе алирокумаба и 788 в группе плацебо), что дает 2061 пациенто-год воздействия 150 мг алирокумаба каждые 2 недели. Общий средний показатель соблюдения схемы исследуемого лечения (т.е. процентная доля дней, в которые пациент вводил инъекции согласно запланированному расписанию приема) составлял 98,0 и 97,6% в группе алирокумаба и плацебо соответственно. Средняя длительность последующего наблюдения (вне зависимости от соблюдения схемы лечения) в популяции для оценки безопасности составляла 80,9 недели для алирокумаба и 80,1 недели для плацебо. Показатели прекращения исследуемого лечения составляли 28% для алирокумаба и 25% для плацебо.

Безопасность.

Процентные доли пациентов, которые испытывали нежелательные явления, возникшие в ходе лечения, были сходными в обеих группах лечения (81% в случае алирокумаба по сравнению с 83% в случае плацебо) (см. табл. 6). Нежелательные явления, возникшие в ходе лечения, которые привели к прекращению приема исследуемого лекарственного средства, имели место у 7,2% пациентов с алирокумабом и 5,8% пациентов с плацебо. Относительно конкретных нежелательных явлений наблюдались различия между группой алирокумаба и группой плацебо по показателям для реакций в месте инъекции (5,9% по сравнению с 4,2% соответственно), миалгии (5,4% по сравнению с 2,9% соответственно), нейрокогнитивных нарушений (1,2% по сравнению с 0,5% соответственно) и офтальмологических нарушений (2,9% по сравнению с 1,9% соответственно) (см. табл. 6).

Среди пациентов с алирокумабом 575 (38% всего) имели два последовательно рассчитанных уровня холестерина LDL менее 25 мг/дл. Показатели нежелательных явлений, возникших в ходе лечения, для этих пациентов были сопоставимы с уровнями во всей группе алирокумаба.

Сердечно-сосудистые события.

Положительно установленные сердечно-сосудистые нежелательные явления, возникшие в ходе лечения, имели место у 4,6 и 5,1% пациентов с алирокумабом и плацебо соответственно (см. табл. 6). В ретроспективном анализе с использованием предварительно заданной первичной конечной точки в продолжающемся испытании ODYSSEY OUTCOMES (смерть по причине коронарного заболевания сердца, инфаркт миокарда, ишемический инсульт или нестабильная стенокардия, при которой требуется госпитализация) более низкий уровень установленных серьезных кардиальных событий обнаружили в группе алирокумаба (27 из 1550 пациентов, 1,7%) в сравнении с группой плацебо (26 из 788 пациентов, 3,3%; отношение рисков 0,52; 95% CI, 0,31-0,90; номинальное значение $P<0,01$) (см. табл. 3). Расхождение криевых кумулятивной частоты увеличивалось с течением времени (см. фиг. 6). При включении всех установленных сердечно-сосудистых событий (добавление застойной сердечной недостаточности, при которой требуется госпитализация, и обусловленной ишемией реваскуляризации коронарных сосудов) различие между группами было незначительным (см. табл. 6).

Таблица 6
 АЕ, представляющие интерес, и лабораторные значения показателя безопасности
 (анализ безопасности)

Число пациентов Пациенты с максимально переносимой терапией статинами ± другой LLT	Алирокумаб (N=1550)	Плацебо (N=788)	p- значение
Обобщение TEAE*			
TEAE	1255 (81,0)	650 (82,5)	0,3983
Возникшие в ходе лечения SAE	290 (18,7)	154 (19,5)	0,6555
TEAE, приведшие к смерти	8 (0,5)	10 (1,3)	0,0760
TEAE, приведшие к прекращению лечения	111 (7,2)	46 (5,8)	0,2559
Сердечно-сосудистые АЕ, представляющие интерес			
Смерть от CHD, включая неопределенные причины	4 (0,3)	7 (0,9)	0,2559
Несмертельный MI	14 (0,9)	18 (2,3)	0,0129
Смертельный и несмертельный ишемический инсульт	9 (0,6)	2 (0,3)	0,3528
Нестабильная стенокардия, при которой требуется госпитализация	0	1 (0,1)	0,337
Застойная сердечная недостаточность, при которой требуется госпитализация	9 (0,6)	3 (0,4)	0,761
Процедура реваскуляризации коронарных сосудов по причине ишемии	48 (3,1)	24 (3,0)	1
Положительно установленные сердечно- сосудистые события (включая все сердечно-сосудистые АЕ, перечисленные выше)	72 (4,6)	40 (5,1)	0,682
Ретроспективный анализ подгруппы с установленным MACET [†]	27 (1,7)	26 (3,3)	0,0116
Другие АЕ, представляющие интерес			
Общие явления, связанные с аллергическими реакциями	156 (10,1)	75 (9,5)	0,7142
Локальная реакция в месте инъекции	91 (5,9)	33 (4,2)	0,0968
Миалгия	84 (5,4)	23 (2,9)	0,0063
Неврологические явления [‡]	65 (4,2)	35 (4,4)	0,8289

Нейрокогнитивные нарушения	18 (1,2)	4 (0,5)	0,1727
Амнезия	5 (0,3)	0	0,1747
Нарушение памяти	4 (0,3)	1 (0,1)	0,6686
Спутанное сознание	4 (0,3)	1 (0,1)	0,6686
Офтальмологические нарушения	35 (2,9)	15 (1,9)	0,6516
Гемолитическая анемия	0	0	NC
Сахарный диабет у пациентов без сахарного диабета в анамнезе, n/N (%) ¹	18/994 (1,8)	10/509 (2,0)	0,8419
Ухудшение сахарного диабета у пациентов с сахарным диабетом в анамнезе, n/N (%) ¹	72/556 (12,9)	38/279 (13,6)	0,8284
Лабораторные значения, представляющие интерес			
Аланинаминотрансфераза >3 раза ULN, n/N (%)	28/1533 (1,8)	16/779 (2,1)	0,748
Аспартатаминотрансфераза >3 раза ULN, n/N (%)	22/1533 (1,4)	18/779 (2,3)	0,1316
Креатинкиназа >3 раза ULN, n/N (%)	56/1507 (3,7)	38/771 (4,9)	0,1819

P-значения рассчитаны с использованием точного теста Фишера и без поправки на множественные сравнения. Предоставлено только для наглядности.

Общее резюме.

На 24 неделе различие между группами алирокумаба и плацебо в отношении процентного изменения среднего рассчитанного уровня холестерина LDL от исходного значения составляло -62% (P<0,0001); эффект лечения оставался сопоставимым на протяжении 78 недель с 56% снижением от исходного значения в отношении LDL-C для алирокумаба по сравнению с плацебо (p<0,001). Наблюдались различия между группой алирокумаба и группой плацебо по показателям для реакций в месте инъекции (5,9% по сравнению с 4,2% соответственно), миалгии (5,4% по сравнению с 2,9% соответственно), нейрокогнитивных нарушений (1,2% по сравнению с 0,5%, соответственно) и офтальмологических нарушений (2,9% по сравнению с 1,9% соответственно). В ретроспективном анализе безопасности значительное снижение в отношении сердечно-сосудистых событий наблюдали в случае алирокумаба с использованием комбинированной конечной точки, к которой относится смерть по причине коронарного заболевания сердца, инфаркт миокарда, ишемический инсульт или нестабильная стенокардия, при которой требуется госпитализация, с 48% снижением в отношении риска серьезных сердечно-сосудистых событий на протяжении 80 недель последующего наблюдения у 2341 пациентов.

Пример 4. Долгосрочная безопасность и переносимость алирокумаба в объединенном анализе 5 фазы 3 плацебо-контролируемых испытаний.

В испытаниях ODYSSEY оценивали потенциал для подкожно вводимого алирокумаба в одной или нескольких группах пациентов при наличии значительной неудовлетворенной потребности в этом. Одна такая популяция представляла собой пациентов с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией (HeFH), наследственной формой повышенного уровня холестерина; при этом в ODYSSEY FH I, FH II и HIGH FH уделяли основное внимание исключительно пациентам из этой группы. HeFH представляет собой наследственное заболевание метаболизма липидов, которое предрасполагает к высокому уровню LDL-C и раннему тяжелому сердечно-сосудистому заболеванию (CVD) у пациента. Вторая популяция представляла собой пациентов с высоким или очень высоким сердечно-сосудистым (CV) риском; при этом в ODYSSEY COMBO I, COMBO II, OPTIONS I, OPTIONS II и LONG TERM уделяли основное внимание этим пациентам. Третья группа представляла собой пациентов с нарушением толерантности к статинам в анамнезе; при этом в ODYSSEY ALTERNATIVE включали пациентов с нарушением толерантности к статинам в анамнезе и риском CV от умеренного до очень высокого.

9 испытаний ODYSSEY вместе с испытанием Odyssey MONO (связанным с эффектом алирокумаба в отсутствие любой другой липид-корригирующей терапии) охватывают свыше 5000 пациентов, которых исследовали в двойных слепых испытаниях на протяжении 24-104 недель. В испытаниях оценивали два отличающихся режима дозирования: 150 миллиграмм (мг) каждые 2 недели или 75 мг каждые 2 недели с повышением до 150 мг при необходимости достижения установленных протоколом целевых значений LDL-C.

Дозы 75 и 150 мг вводили посредством одной выполняемой самостоятельно инъекции, составляющей один миллилитр (мл). В каждом из этих испытаний алирокумаб сравнивали либо с плацебо, либо с эзетимибом. Таким образом, испытания можно разделить на плацебо-контролируемые и эзетимиб-

контролируемые испытания.

Установленные сердечно-сосудистые события.

Во всех исследованиях фазы 3 предполагаемые CV события и все случаи смерти, которые имели место от времени рандомизации до визита последующего наблюдения, были установлены комитетом по клиническим явлениям. Анализы установленных событий осуществляли по объединенным данным от 5 плацебо-контролируемым испытаний. Этот анализ данных от объединенных плацебо-контролируемым исследований представлен ниже, причем основное внимание уделено MACE-событиям (смерть от CHD, несмертельный MI, смертельный или несмертельный ишемический инсульт и нестабильная стенокардия, при которой требуется госпитализация). Комбинированная конечная точка MACE в целом рассматривается как наиболее подходящая и точная для оценки исхода в отношении сердечно-сосудистой системы, и при этом она представляет собой первичную конечную точку исследования OUTCOMES (пример 2).

Плацебо-контролируемый пул фазы 3 объединял пять испытаний из программы ODYSSEY: LTS11717, FH I, FH II, HIGH FH, COMBO I. LTS11717 детально описан выше в примере 3. План и обоснование для FH I, FH II и High FH детально описаны у Kastelein et al.: Cardiovasc Drugs Ther., 2014, 28(3): 281-289. План и обоснование для Combo I детально описаны у Colhoun et al.: BMC Cardiovasc Disord, 2014, 14: 121. Данные публикации, таким образом, включены посредством ссылки во всей своей полноте.

В плацебо-контролируемом пуле фазы 3 установленная комбинированная конечная точка MACE имела место у 35 (1,5%) пациентов в группе алирокумаба (N=2318) и у 27 (2,3%) пациентов в группе плацебо (N=1174). Показатели частоты заболеваний (на 100 пациенто-лет) составляли 1,3 и 1,9 в группах алирокумаба и плацебо соответственно, при этом отношение рисков HR (95% CI) было следующим: 0,65 (0,40-1,08).

В наиболее масштабном плацебо-контролируемом исследовании LONG TERM (LTS11717), установленное комбинированное MACE-событие имело место у 22 (1,4%) пациентов в группе алирокумаба (N=2318) и у 24 (3,0%) пациентов в группе плацебо (HR: 0,46 (0,26-0,82)) (см. также пример 3). В других плацебо-контролируемом исследованиях было обнаружено низкое число MACE-событий, что приводило к вариабельным показателям HR. Показатели согласно методу Каплана-Майера для времени до первой конечной точки MACE показаны на фиг. 7 (данные оценивались в период TEAE; последняя инъекция исследуемого средства для лечения+70 дней).

Обобщение.

В общем в исследованиях фазы 3 с плацебо-контролируемым пулом наблюдалась тенденция к снижению количества MACE-событий в группе алирокумаба при сравнении с плацебо при HR 0,65 (95% CI: 0,40-1,08) и, в частности, в наиболее масштабном (n=2338) и продолжительном (вплоть до 18 месяцев) отдельном исследовании LONG TERM при HR 0,46 (95% CI: 0,26-0,82). Большинство установленных и подтвержденных CV событий представляли собой реваскуляризации, и при этом они не включены в конечную точку MACE. Клинические стандарты реваскуляризации отличаются по всему миру и вполне вероятно, что многие из этих случаев отражают повышенное внимание к предшествующему заболеванию в контексте клинического исследования.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ увеличения времени по отношению к случаю смерти по причине коронарного заболевания сердца, острого инфаркта миокарда, госпитализации из-за нестабильной стенокардии или ишемического инсульта у пациента с высоким сердечно-сосудистым риском в течение 12 месяцев после приступа острого коронарного синдрома (ACS), включающий введение пациенту одной или нескольких доз антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с пропротеиновой конвертазой субтилизин/кексинового типа 9 (PCSK9), где у пациента обнаруживается нарушенный контроль уровней атерогенных липопротеинов несмотря на стационарное лечение при помощи терапии посредством максимально переносимой дозы статинов;

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат аминокислотные последовательности CDR тяжелой и легкой цепей, имеющие SEQ ID NO: 2 (HCDR1), 3 (HCDR2), 4 (HCDR3), 7 (LCDR1), 8 (LCDR2) и 10 (LCDR3); и

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе 75 мг с частотой один раз каждые 2 недели, где дозу, составляющую 75 мг, продолжают вводить, если у пациента уровень холестерина липопротеинов низкой плотности LDL-C, измеренный после двух доз, является более низким, чем пороговый уровень, и где дозу, составляющую 75 мг, отменяют, и антитело или его антигенсвязывающий фрагмент впоследствии вводят пациенту в дозе 150 мг с частотой один раз каждые 2 недели, если уровень LDL-C у пациента, измеренный после двух доз, находится на пороговом уровне или превышает пороговый уровень.

2. Способ по п.1, где пороговый уровень составляет 50 мг/дл.

3. Способ по п.1 или 2, где приступ ACS характеризуется

1) нестабильными симптомами ишемии миокарда, имеющими место в состоянии покоя или минимального напряжения в течение 72 ч внепланового стационарного лечения по причине предполагаемого

или подтвержденного обструктивного заболевания коронарных артерий; и

2) по меньшей мере одним из следующего:

а) повышенным уровнем кардиальных биомаркеров, указывающих на острый инфаркт миокарда, или

б) ЭКГ-изменениями в состоянии покоя, указывающими на ишемию или инфаркт, наряду с дополнительным доказательством обструктивного заболевания коронарных артерий в результате нарушений визуализации регионарной перфузии или нарушений движения стенок, эпикардиального стеноза коронарных сосудов $\geq 70\%$, подтвержденного рентгеноангиографией, или необходимости реваскуляризации коронарных сосудов, связанной с приступом.

4. Способ по любому из пп.1-3, где пациент имеет гетерозиготную семейную гиперхолестеринемию (heFH) с установленным коронарным заболеванием сердца (CHD) или эквивалентами риска возникновения CHD.

5. Способ по п.4, где пациент имеет подтвержденную историю CHD, где подтвержденная история CHD выбрана из группы, состоящей из

- а) острого инфаркта миокарда (MI),
- б) бессимптомного инфаркта миокарда,
- в) нестабильной стенокардии,
- г) процедуры реваскуляризации коронарных сосудов, и
- д) клинически значимого CHD.

6. Способ по п.4, где пациент имеет эквиваленты риска возникновения CHD, при этом эквиваленты риска возникновения CHD выбраны из группы, состоящей из

- а) заболевания периферических артерий,
- б) подтвержденного предыдущего ишемического инсульта с фокальным ишемическим неврологическим расстройством, которое продолжалось более 24 ч, атеротромботического происхождения;
- в) хронического заболевания почек средней тяжести (CKD), и
- г) истории сахарного диабета и двух или более дополнительных факторов риска.

7. Способ по любому из пп.1-6, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат HCVR с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 1 и LCVR с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 6.

8. Способ по любому из пп.1-7, где дозу, составляющую 150 мг, отменяют, если уровень LDL-C у пациента согласно любым двум следующим друг за другом измерениям составляет <25 мг/дл, и при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент впоследствии вводят пациенту в дозе 75 мг с частотой один раз каждые 2 недели.

9. Способ по любому из пп.1-8, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту совместно с терапией посредством максимально переносимой дозы статинов.

10. Способ по любому из пп.1-9, где терапия посредством максимально переносимой дозы статинов предусматривает аторвастатин в ежедневной дозе от 40 до 80 мг.

11. Способ по любому из пп.1-9, где терапия посредством максимально переносимой дозы статинов предусматривает розувастатин в ежедневной дозе от 20 до 40 мг.

12. Способ по любому из пп.1-11, где у пациента до или во время введения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента обнаруживается нарушенный контроль уровней атерогенных липопротеинов, определенный как

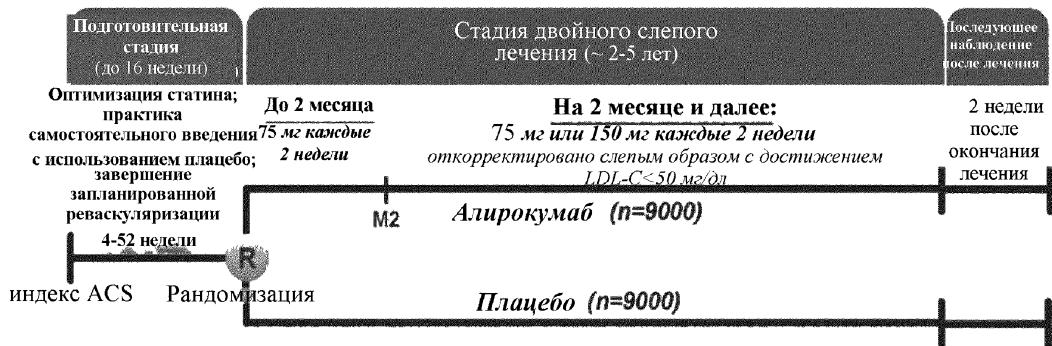
1) уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) в сыворотке крови ≥ 70 мг/дл;

2) уровень холестерина, не относящегося к холестерину липопротеинов высокой плотности, ≥ 100 мг/дл; или

3) уровень аполипопротеина В ≥ 80 мг/дл.

13. Способ по любому из пп.1-12, где стационарное лечение представляет собой лечение на протяжении по меньшей мере 2 недель.

14. Способ по любому из пп.1-13, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят посредством подкожной инъекции.



† Лечение посредством терапии с оптимальной дозой статинов: аторвастатин 40/80 мг, розувастатин 20/40 мг или максимально переносимая до не-HDL-C>100 мг/дл татинов, с использованием или без использования средств для лечения высокого уровня липидов, отличных от статинов. Терапевтические изменения образа жизни согласно NCEP-ATPIII или их эквивалент в течение всего лечения.

* Нарушенный контроль атерогенных липопротеинов. По меньшей мере одно из следующего: $LDL-C \geq 70 \text{ мг/дл}$ (1,81 ммоль/л), non-HDL-C > 100 мг/дл (2,59 ммоль/л) илиapo B > 80 мг/дл

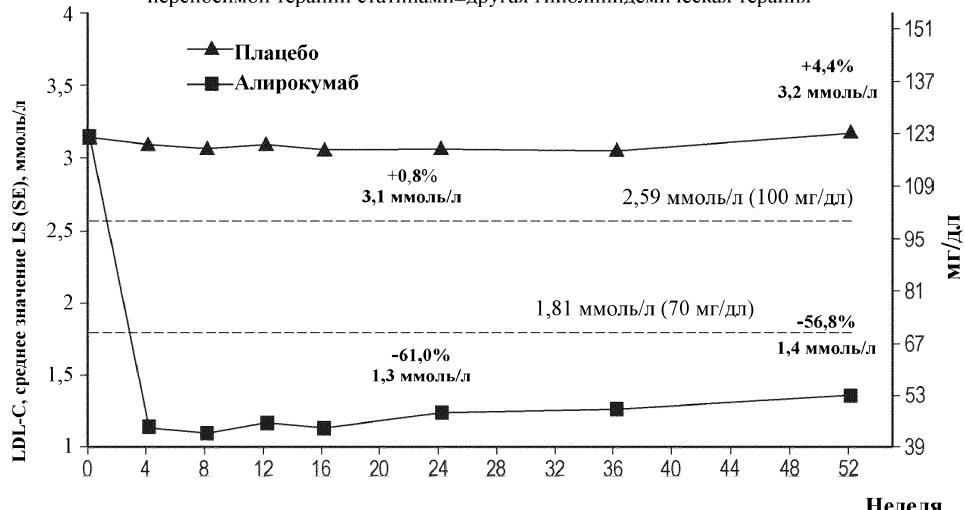
Фиг. 1



Фиг. 2

**Обусловленное алирокумабом
соответствующее снижение
уровня LDL-C в течение 52**

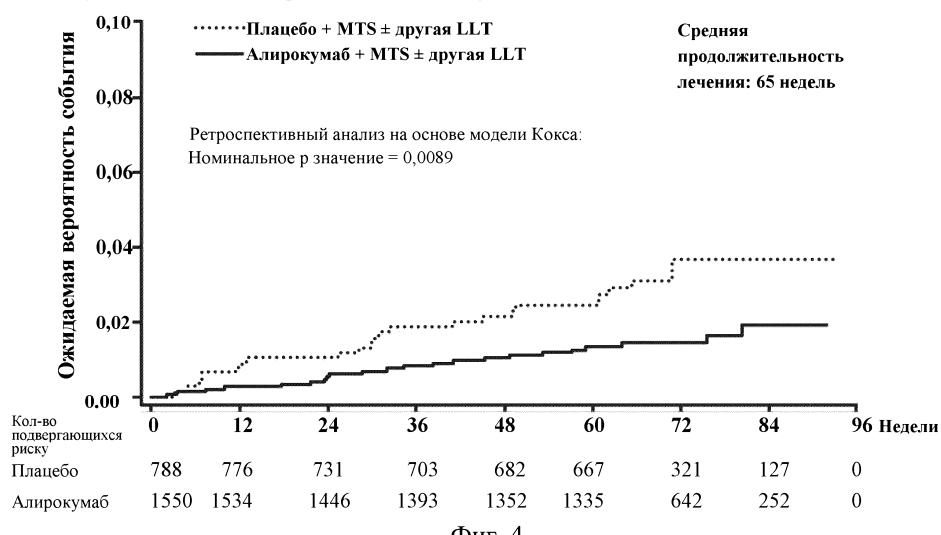
Достигнутый уровень LDL-C с течением времени
Все пациенты с фоновым лечением посредством максимально
переносимой терапии статинами±другая гиполипидемическая терапия



Фиг. 3

График показателей Каплана-Майера для времени до первого установленного серьезного CV события (анализ с предварительно заданными параметрами)

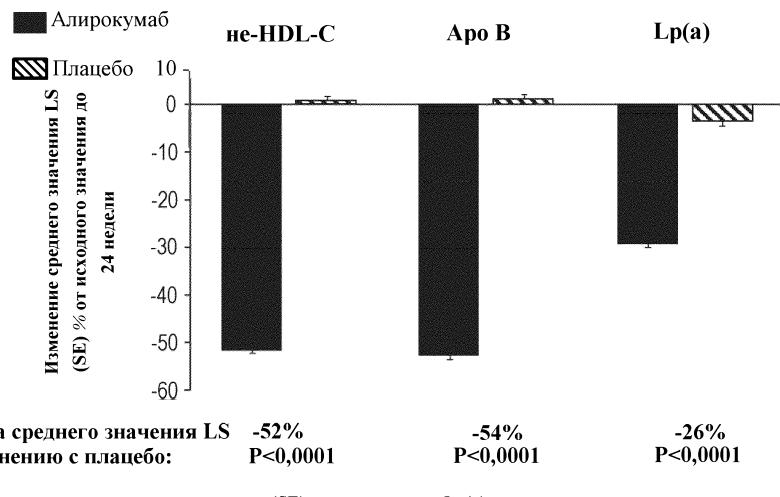
Анализ безопасности из первой стадии (52 недели для всех пациентов включая ~600 пациентов, получавших лечение на протяжении 78 недель)



Фиг. 4

Значительные снижения вторичных параметров липидов на 24 неделе

Все пациенты с фоновым лечением посредством максимально переносимой терапии статинами
± другая гиполипидемическая терапия

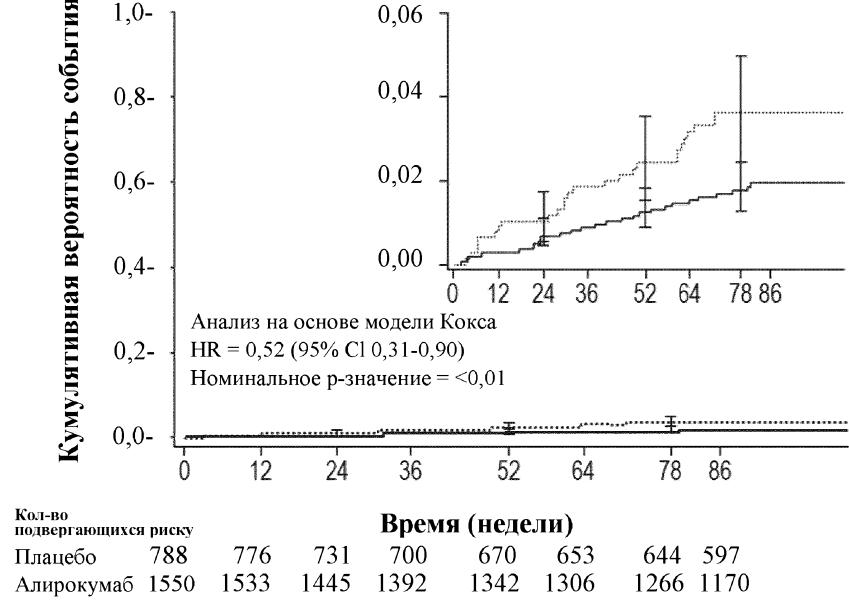


Стандартизированное среднее значение (SE), показанное для Lp(a)

Фиг. 5

График показателей Каплана-Майера для времени до первого установленного серьезного CV события (итоговый анализ)

..... Плацебо + максимально переносимая терапия статинами ± другая LLT
..... Алирокумаб + максимально переносимая терапия статинами ± другая LLT



Фиг. 6

График показателей Каплана-Мейера для времени до первого установленного серьезного CV события
Объединенный анализ плацебо-контролируемой фазы 3

