

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 882 570**

51 Int. Cl.:

<b>C07K 16/40</b>	(2006.01) <b>C07K 14/47</b>	(2006.01)
<b>A61K 39/395</b>	(2006.01) <b>A61K 39/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 45/06</b>	(2006.01) <b>A61P 3/00</b>	(2006.01)
<b>A61J 1/05</b>	(2006.01) <b>A61P 3/06</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/215</b>	(2006.01) <b>A61P 5/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/366</b>	(2006.01) <b>A61P 7/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/404</b>	(2006.01) <b>A61P 9/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/435</b>	(2006.01) <b>A61P 9/10</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/47</b>	(2006.01) <b>A61P 43/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/505</b>	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.01.2012** **E 18162658 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.04.2021** **EP 3395836**

54 Título: **Anticuerpos humanos contra PCSK9 para su uso en métodos de tratamiento de grupos de sujetos particulares**

30 Prioridad:

**28.01.2011 EP 11305088**  
**28.01.2011 EP 11305089**  
**29.04.2011 EP 11305513**  
**29.04.2011 EP 11305514**  
**12.08.2011 EP 11306039**  
**12.08.2011 EP 11306040**  
**22.09.2011 EP 11306201**  
**22.09.2011 EP 11306202**  
**08.11.2011 EP 11306449**  
**08.11.2011 EP 11306450**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**02.12.2021**

73 Titular/es:

**SANOFI BIOTECHNOLOGY (100.0%)**  
**54 rue La Boétie**  
**75008 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**HANOTIN, CORINNE;**  
**BESSAC, LAURENCE y**  
**CHAUDHARI, UMESH**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 882 570 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Anticuerpos humanos contra PCSK9 para su uso en métodos de tratamiento de grupos de sujetos particulares

La presente invención se refiere a métodos de preparación de una forma de dosificación unitaria.

**ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

- 5 La proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9) es una proproteína convertasa que pertenece a la subfamilia de la proteinasa K de la familia de subtilasas secretoras. La proteína codificada se sintetiza como un zimógeno soluble que experimenta procesamiento intramolecular autocatalítico en el retículo endoplásmico. La evidencia sugiere que PCSK9 aumenta el colesterol de LDL en plasma promoviendo la degradación del receptor de LDL, que media en la endocitosis de LDL en el hígado, la principal vía de eliminación de LDL de la circulación. La estructura de la proteína PCSK9 muestra que tiene una secuencia señal, seguida de un prodominio, un dominio catalítico que contiene una tríada conservada de restos (D186, H226 y S386) y un dominio de extremo C. Se sintetiza como un precursor de 74 kDa soluble que experimenta escisión autocatalítica en el RE, generando un prodominio de 14 kDa y fragmento catalítico de 60 kDa. Se ha mostrado que la actividad autocatalítica se requiere para la secreción. Después de la escisión, el prodominio sigue fuertemente asociado al dominio catalítico.
- 10
- 15 Anticuerpos frente a PCSK9 se describen en, por ejemplo, los documentos WO 2008/057457, WO 2008/057458, WO 2008/057459, WO 2008/063382, WO 2008/125623 y US 2008/0008697. Los anticuerpos anti-PCSK9 que son particularmente muy aptos para la práctica de la presente invención se desvelan en el documento US 2010/0166768 A1.

**PROBLEMAS TÉCNICOS SUBYACENTES A LA PRESENTE INVENCION**

- 20 Las estatinas se encuentran entre los fármacos más ampliamente usados en el mundo. Aunque las estatinas generalmente presentan un excelente perfil de seguridad, se desea optimizar adicionalmente el perfil de seguridad reduciendo la tasa ya baja de efectos secundarios no deseados (tales como miopatías).

- A pesar de la generalizada disponibilidad de agentes hipolipemiantes tales como estatinas, aproximadamente el 30 % de todos los pacientes adultos tratados para hipercolesterolemia en los Estados Unidos entre 1999 y 2006 dejaron de lograr sus objetivos de C-LDL recomendados. Motivos para esto incluyen mal cumplimiento terapéutico con la terapia, resistencia/intolerancia a fármacos y la relación positiva entre tasas de acontecimientos adversos y aumento de la dosis. Además, como los agentes hipolipemiantes más eficaces pueden solo reducir los niveles de C-LDL hasta el 55 %, las tasas de obtención de objetivos en pacientes que requieren reducciones sustanciales en C-LDL, tales como aquellos con hipercolesterolemia familiar, son frecuentemente significativamente más bajas de las que podrían esperarse. Por tanto, se requieren agentes hipolipemiantes y pautas de tratamiento más eficaces para mejorar las tasas de obtención de objetivos en estos pacientes.
- 25
- 30

Bastante sorprendentemente, los inventores de la presente invención encontraron que la administración de anticuerpos anti-PCSK9 o fragmentos de los mismos aumenta la actividad reductora de colesterol de LDL de las estatinas, cuando se administran en pautas posológicas particulares y/o a grupos particulares de pacientes.

- 35 Así, la co-administración de anticuerpos anti-PCSK9 o fragmentos de los mismos potencia la eficacia de una terapia con estatinas y permite una reducción en la dosificación de estatinas, reduciendo así los efectos secundarios no deseados.

- Además, los inventores de la presente invención encontraron que pautas posológicas particulares de anticuerpos anti-PCSK9 y/o estatinas son más adecuadas para reducir los niveles de colesterol de LDL que otras. Los inventores también encontraron que algunos subgrupos de pacientes se benefician más que otros de un tratamiento con anticuerpos anti-PCSK9 o fragmentos de los mismos y/o estatinas. Los inventores encontraron además que el tratamiento con anticuerpos anti-PCSK9 o fragmentos de los mismos y/o estatinas está contraindicado para algunos subgrupos de pacientes.
- 40

La visión general anterior no describe necesariamente todos los problemas resueltos por la presente invención.

**SUMARIO DE LA INVENCION**

El alcance de la presente invención se define en el conjunto adjunto de reivindicaciones.

En un primer aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de tratamiento de una enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto, que comprende:

- 50 administrar una cantidad terapéutica de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana) a un sujeto en necesidad del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra en una cantidad de dosis que oscila de 5 mg a 500 mg, y

administrar una cantidad terapéutica de un inhibidor de HMG-CoA reductasa a dicho sujeto, en el que el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra en una cantidad de dosis que oscila de 0,05 mg a 100 mg.

En un segundo aspecto, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana) para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección en que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto,

en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración en una cantidad de dosis que oscila de 5 mg a 500 mg,

en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es además para administración en combinación con un inhibidor de HMG-CoA reductasa a una cantidad de dosis que oscila de 0,05 mg a 100 mg.

En un tercer aspecto, la presente divulgación se refiere a un artículo de fabricación que comprende:

(a) un material de envasado; (b) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h; y (c) una etiqueta o prospecto contenido dentro del material de envasado que indica que los pacientes que reciben tratamiento con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno pueden tratarse para una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares.

En un cuarto aspecto, la presente divulgación se refiere a un artículo de fabricación que comprende:

(a) un material de envasado; (b) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h; y (c) una etiqueta o prospecto contenido dentro del material de envasado que indica el tratamiento de pacientes con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo junto con la aplicación de una estatina.

En un quinto aspecto, la presente divulgación se refiere a un artículo de fabricación que comprende (a) un material de envasado; (b) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h; y (c) una etiqueta o prospecto que indica que el tratamiento de pacientes con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo junto con una estatina está contraindicado para pacientes que pertenecen a uno o más de los siguientes grupos: (i) fumadores; (ii) personas de 70 años o mayores; (iii) personas que padecen hipertensión; (iv) mujeres que están embarazadas; (v) mujeres que están intentando quedarse embarazadas; (vi) mujeres que están dando de mamar; (vii) personas que tienen o han tenido alguna vez una enfermedad que afecta al hígado; (viii) personas que tuvieron algún análisis de sangre anormal inexplicado para la función hepática; (ix) personas que beben excesivas cantidades de alcohol; (x) personas que tienen problemas de riñón; (xi) personas que padecen hipotiroidismo; (xii) personas que padecen trastornos musculares; (xiii) personas que han tenido problemas musculares previos durante el tratamiento con medicina hipolipemiente; (xiv) personas que tienen graves problemas con su respiración; (xv) personas que toman una o más de las siguientes medicinas: medicinas que alteran la forma en la que trabajan los sistemas inmunitarios (por ejemplo, ciclosporina o antihistamínicos), antibióticos o medicinas antifúngicas (por ejemplo, eritromicina, claritromicina, ketoconazol, itraconazol, rifampicina, ácido fusídico), medicinas que regulan los niveles de lípidos (por ejemplo, gemfibrozilo, colestipol), bloqueantes de los canales de calcio (por ejemplo, verapamilo, diltiazem), medicinas que regulan el ritmo cardíaco (digoxina, amiodarona), inhibidores de la proteasa usados en el tratamiento de VIH (por ejemplo, nelfinavir, warfarina, anticonceptivos orales, antiácidos o hierba de san Juan; o (xvi) personas que beben más de 0,1 l de zumo de pomelo al día; (xvii) personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) superior a 40; (xviii) personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) inferior a 18; (xix) personas que padecen diabetes de tipo 1 o diabetes de tipo 2; (xx) personas positivas para hepatitis B o hepatitis C; o (xxi) personas que tienen una sensibilidad conocida a fármacos terapéuticos de anticuerpos monoclonales.

En un sexto aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de prueba de la eficacia de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h para el tratamiento de una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares, comprendiendo dicho método:

tratar una población de pacientes seleccionada con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, en el que cada paciente en dicha población tiene un nivel de colesterol de C-LDL superior a 100 mg/dl; y

determinar la eficacia de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo determinando el nivel de C-LDL en la población de pacientes antes y después de la administración de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, en el que una reducción del nivel de C-LDL de al menos el 25 % con respecto a un nivel predosis en al menos el 75 % de la población de pacientes indica que dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es eficaz para el tratamiento de dicha enfermedad o afección en dicha población de pacientes.

En un séptimo aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de prueba de la eficacia de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h para el tratamiento de una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares, comprendiendo dicho método:

- 5 determinar la eficacia de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se ha usado para el tratamiento de una población de pacientes seleccionada con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, en el que cada paciente en dicha población tiene un nivel de colesterol de C-LDL superior a 100 mg/dl determinando el nivel de C-LDL en la población de pacientes antes y después de la administración de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, en el que una reducción del nivel de C-LDL de al menos el 25 % con respecto a un nivel predosis en al menos el 75 % de la población de pacientes indica que dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es eficaz para el tratamiento de dicha enfermedad o afección en dicha población de pacientes.

- 15 En un octavo aspecto, la presente divulgación se refiere a un envase que comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (véase la sección "*Anticuerpos preferidos*") y una etiqueta, comprendiendo dicha etiqueta una declaración impresa que informa al paciente de que el tratamiento del anticuerpo junto con una estatina se indica en una o más de las indicaciones seleccionadas del grupo que consiste en hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares.

- 20 En un noveno aspecto, la presente divulgación se refiere a un envase que comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (véase sección "*Anticuerpos preferidos*") y una etiqueta, comprendiendo dicha etiqueta una declaración impresa que informa al paciente de que el tratamiento del anticuerpo junto con una estatina está contraindicado para pacientes que pertenecen a uno o más de los siguientes grupos: (i) fumadores; (ii) personas de 70 años o mayores; (iii) personas que padecen hipertensión; (iv) mujeres que están embarazadas; (v) mujeres que están intentando quedarse embarazadas; (vi) mujeres que están dando de mamar; (vii) personas que tienen o han tenido alguna vez una enfermedad que afecta al hígado; (viii) personas que tuvieron algún análisis de sangre anormal inexplicado para la función hepática; (ix) personas que beben excesivas cantidades de alcohol; (x) personas que tienen problemas de riñón; (xi) personas que padecen hipotiroidismo; (xii) personas que padecen trastornos musculares; (xiii) personas que han tenido problemas musculares previos durante el tratamiento con medicina hipolipemiente; (xiv) personas que tienen graves problemas con su respiración; (xv) personas que toman una o más de las siguientes medicinas: medicinas que alteran la forma en la que trabajan los sistemas inmunitarios (por ejemplo, ciclosporina o antihistamínicos), antibióticos o medicinas antifúngicas (por ejemplo, eritromicina, claritromicina, ketoconazol, itraconazol, rifampicina, ácido fusídico), medicinas que regulan los niveles de lípidos (por ejemplo, gemfibrozilo, colestipol), bloqueantes de los canales de calcio (por ejemplo, verapamilo, diltiazem), medicinas que regulan el ritmo cardíaco (digoxina, amiodarona), inhibidores de la proteasa usados en el tratamiento de VIH (por ejemplo, nelfinavir), warfarina, anticonceptivos orales, antiácidos o hierba de san Juan; o (xvi) personas que beben más de 0,1 l de zumo de pomelo al día; (xvii) personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) superior a 40; (xviii) personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) inferior a 18; (xix) personas que padecen diabetes de tipo 1 o diabetes de tipo 2; (xx) personas positivas para hepatitis B o hepatitis C; o (xxi) personas que tienen una sensibilidad conocida a fármacos terapéuticos de anticuerpos monoclonales.

- 40 En un décimo aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de regulación del nivel de LDL en la sangre que comprende:

administrar una cantidad terapéutica de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana) a un sujeto en necesidad del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra en una cantidad de dosis que oscila de 5 mg a 500 mg, y

- 45 administrar una cantidad terapéutica de un inhibidor de HMG-CoA reductasa a dicho sujeto, en el que el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra en una cantidad de dosis que oscila de 0,05 mg a 100 mg.

En un décimo primer aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de prevención de los efectos de un nivel de LDL (persistentemente) elevado en la sangre que comprende:

- 50 administrar una cantidad terapéutica de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana) a un sujeto en necesidad del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra en una cantidad de dosis que oscila de 5 mg a 500 mg, y

administrar una cantidad terapéutica de un inhibidor de HMG-CoA reductasa a dicho sujeto, en el que el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra en una cantidad de dosis que oscila de 0,05 mg a 100 mg.

- 55 En un décimo segundo aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de determinación de si un compuesto farmacéutico es utilizable para corregir, mejorar, inhibir o prevenir una enfermedad o afección en la que la actividad o expresión de PCSK9 tiene un impacto que comprende:

(a) administrar a un sujeto un compuesto que se une específicamente a PCSK9, preferentemente un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9, y

(b) determinar qué fracción de PCSK9 en la sangre está unida al compuesto de (a).

5 En un décimo tercer aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de tratamiento de una enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto que comprende

administrar una cantidad terapéutica de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana) a un sujeto en necesidad del mismo,

10 en el que el sujeto en necesidad del mismo se clasifica en uno o más de los siguientes grupos de sujetos: (i) sujetos que tienen un nivel de colesterol de C-LDL en suero de al menos 100 mg/dl; (ii) sujetos que tienen un nivel de HDL-C en suero inferior a 40 mg/dl; (iii) sujetos que tienen un nivel de colesterol en suero de al menos 200 mg/dl; (iv) sujetos que tienen un nivel de triacilglicérols en suero de al menos 150 mg/dl, en el que dicho nivel de triacilglicérols se determina después de ayunar durante al menos 8 horas; (v) sujetos que tienen al menos 35 años; (vi) sujetos más jóvenes de 75 años; (vii) sujetos que tienen un IMC de 25 o más; (viii) sujetos masculinos; (ix) sujetos femeninos; (x) sujetos en los que la administración de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo conduce a una reducción en el nivel de C-LDL en suero de al menos 30 mg/dl con respecto al nivel predosis; o (xi) sujetos en los que la administración de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo conduce a una reducción en el nivel de C-LDL en suero de al menos el 20 % con respecto al nivel predosis.

20 En un décimo cuarto aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de tratamiento de una enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto que comprende

administrar una cantidad terapéutica de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana) a un sujeto en necesidad del mismo,

25 en el que el sujeto en necesidad del mismo no se clasifica en uno o más de los siguientes grupos de sujetos: (i) fumadores; (ii) personas de 70 años o mayores; (iii) personas que padecen hipertensión; (iv) mujeres que están embarazadas; (v) mujeres que están intentando quedarse embarazadas; (vi) mujeres que están dando de mamar; (vii) personas que tienen o han tenido alguna vez una enfermedad que afecta al hígado; (viii) personas que tuvieron algún análisis de sangre anormal inexplicado para la función hepática; (ix) personas que beben excesivas cantidades de alcohol; (x) personas que tienen problemas de riñón; (xi) personas que padecen hipotiroidismo; (xii) personas que padecen trastornos musculares; (xiii) personas que han tenido problemas musculares previos durante el tratamiento con medicina hipolipemiente; (xiv) personas que tienen graves problemas con su respiración; (xv) personas que toman una o más de las siguientes medicinas: medicinas que alteran la forma en la que trabajan los sistemas inmunitarios (por ejemplo, ciclosporina o antihistamínicos), antibióticos o medicinas antifúngicas (por ejemplo, eritromicina, claritromicina, ketoconazol, itraconazol, rifampicina, ácido fusídico), medicinas que regulan los niveles de lípidos (por ejemplo, gemfibrozilo, colestipol), bloqueantes de los canales de calcio (por ejemplo, verapamilo, diltiazem), medicinas que regulan el ritmo cardíaco (digoxina, amiodarona), inhibidores de la proteasa usados en el tratamiento de VIH (por ejemplo, nelfinavir), warfarina, anticonceptivos orales, antiácidos o hierba de san Juan; o (xvi) personas que beben más de 0,1 l de zumo de pomelo al día; (xvii) personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) superior a 40; (xviii) personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) inferior a 18; (xix) personas que padecen diabetes de tipo 1 o diabetes de tipo 2; (xx) personas positivas para hepatitis B o hepatitis C; o (xxi) personas que tienen una sensibilidad conocida a fármacos terapéuticos de anticuerpos monoclonales.

45 En un décimo quinto aspecto, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana), en el que el anticuerpo se caracteriza por una o más de las siguientes características tras la administración a un sujeto, preferentemente un mamífero humano o no humano:

50 1. reducción de los niveles de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el -25 % a aproximadamente el -40 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 14 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -25 % y más preferentemente al menos el -30 % con respecto a un nivel predosis, particularmente si se administra en una dosis de aproximadamente 40 a aproximadamente 60 mg, preferentemente aproximadamente 45 a aproximadamente 55 mg y más preferentemente aproximadamente 50 mg en una pauta de administración bisemanal (cada dos semanas, E2W),

55 2. reducción de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el -50 % a aproximadamente el -65 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 14 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -40 % y más

preferentemente al menos el -45 % con respecto a un nivel predosis, particularmente si se administra en una dosis de aproximadamente 100 mg E2W,

- 5 3. reducción de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el -60 % a al menos aproximadamente el -75 % [por ejemplo, al menos aproximadamente el -60 %, al menos aproximadamente el -65 %, al menos aproximadamente el -70 o al menos aproximadamente el -75 %] con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 14 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -55 % y más preferentemente al menos el -60 % con respecto a un nivel predosis, particularmente cuando se administra en una dosis de aproximadamente 150 mg E2W,
- 10 4. reducción de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el 40 % a aproximadamente el 75 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 28 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -35 % y más preferentemente al menos el -40 % con respecto a un nivel predosis, particularmente cuando se administra en una dosis de aproximadamente 200 mg E4W,
- 15 5. reducción de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el -50 % a aproximadamente el -75 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 28 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -40 % y más preferentemente al menos el -45 % con respecto a un nivel predosis, particularmente cuando se administra en una dosis de aproximadamente 300 mg E4W,
- 20 6. aumento de los niveles de colesterol de HDL en suero de al menos el 2 %, al menos el 2,5 %, al menos el 3 %, al menos el 3,5 %, al menos el 4 %, al menos el 4,5 %, al menos el 5 % o al menos el 5,5 % con respecto a un nivel predosis, particularmente cuando se administra en una dosis de aproximadamente 150 mg E2W,
- 25 7. reducción de colesterol total en suero de al menos aproximadamente el 25 % a aproximadamente el 35 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 24 días,
8. reducción de colesterol total en suero de al menos aproximadamente el 65 % a aproximadamente el 80 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 24 días,
9. reducción de los niveles de triglicéridos en suero de al menos aproximadamente el 25 % a aproximadamente el 40 % con respecto a un nivel predosis,
10. poco efecto o no medible sobre la función hepática, como se ha determinado por mediciones de ALT y AST,
- 30 11. poco efecto o no medible sobre los niveles de troponinas,
12. aumento de uno o más de: niveles de colesterol total, niveles de ApoB, niveles de C-no HDL, relación Apo-B/ApoA-1,

35 En un décimo sexto aspecto, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana) para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto, en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración en una dosis de aproximadamente 50 a 500 mg.

40 En un décimo séptimo aspecto, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana).

para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto.

45 en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración a un sujeto que se encuentra en al menos uno de los siguientes grupos de sujetos: (i) sujetos que tienen un nivel de colesterol de LDL en suero de al menos 100 mg/dl (es decir, al menos 2,6 mmol/l) o de al menos 115 mg/dl (es decir, al menos 3,0 mmol/l); (ii) sujetos que tienen un nivel de C-HDL en suero inferior a 40 mg/dl; (iii) sujetos que tienen un nivel de colesterol en suero de al menos 200 mg/dl; (iv) sujetos que tienen un nivel de triacilglicéridos en suero de al menos 150 mg/dl, en el que dicho nivel de triacilglicéridos se determina después de ayunar durante al menos 8 horas; (v) sujetos que tienen al menos 18, 24 o 35 años; (vi) sujetos que tienen 75 años o más jóvenes; (vii) sujetos que tienen un IMC de 25 o más o de 30 o más; (viii) sujetos masculinos; (ix) sujetos femeninos; (x) sujetos en los que la administración de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo conduce a una reducción en el nivel de C-LDL en suero de al menos 30 mg/dl, al menos 40 mg/dl, al menos 45 mg/dl o al menos 50 mg/dl con respecto al nivel predosis (especialmente después de 12 semanas de tratamiento); o (xi) sujetos en los que la administración de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo conduce a una reducción en el nivel de C-LDL en

suero de al menos el 20 %, al menos 25 %, al menos el 30 %, al menos 35 %, al menos el 40 %, al menos el 45 %, al menos el 50 %, al menos el 55 %, al menos el 60 %, al menos el 65 % o al menos el 70 % con respecto al nivel predosis especialmente después de 12 semanas de tratamiento).

5 En un décimo octavo aspecto, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana) para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto,

10 en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración a un sujeto que no se clasifica en uno o más de los siguientes grupos de sujetos: (i) fumadores; (ii) personas de 70 años o mayores; (iii) personas que padecen hipertensión; (iv) mujeres que están embarazadas; (v) mujeres que están intentando quedarse embarazadas; (vi) mujeres que están dando de mamar; (vii) personas que tienen o han tenido alguna vez una enfermedad que afecta al hígado; (viii) personas que tuvieron algún análisis de sangre anormal inexplicado para la función hepática; (ix) personas que beben excesivas cantidades de alcohol; (x) personas que tienen problemas de riñón; (xi) personas que padecen hipotiroidismo; (xii) personas que padecen trastornos musculares; (xiii) personas que han tenido problemas musculares previos durante el tratamiento con medicina hipolipemiente; (xiv) personas que tienen graves problemas con su respiración; (xv) personas que toman una o más de las siguientes medicinas: 15 medicinas que alteran la forma en la que trabajan los sistemas inmunitarios (por ejemplo, ciclosporina o antihistamínicos), antibióticos o medicinas antifúngicas (por ejemplo, eritromicina, claritromicina, ketoconazol, itraconazol, rifampicina, ácido fusídico), medicinas que regulan los niveles de lípidos (por ejemplo, gemfibrozilo, colestipol), bloqueantes de los canales de calcio (por ejemplo, verapamilo, diltiazem), medicinas que regulan el ritmo cardíaco (digoxina, amiodarona), inhibidores de la proteasa usados en el tratamiento de VIH (por ejemplo, nelfinavir), 20 warfarina, anticonceptivos orales, antiácidos o hierba de san Juan; o (xvi) personas que beben más de 0,1 l de zumo de pomelo al día; (xvii) personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) superior a 40; (xviii) personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) inferior a 18; (xix) personas que padecen diabetes de tipo 1 o diabetes de tipo 2; (xx) personas positivas para hepatitis B o hepatitis C; o (xxi) personas que tienen una sensibilidad conocida a fármacos terapéuticos de anticuerpos monoclonales.

En undécimo noveno aspecto, la presente divulgación se refiere a una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo desvelado en el presente documento junto con un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

30 En un vigésimo aspecto, la presente divulgación se refiere a una disolución para inyección como se describe en el presente documento que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo desvelado en el presente documento, y preferentemente que comprende aproximadamente 40 mg a aproximadamente 200 mg o aproximadamente 50 a aproximadamente 200 mg, por ejemplo, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg o aproximadamente 200 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo por 1 ml de volumen.

35 En un vigésimo primer aspecto, la presente divulgación se refiere a una formulación seca como se describe en el presente documento que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo desvelado en el presente documento, y preferentemente que comprende aproximadamente 40 mg a aproximadamente 500 mg, 50 a aproximadamente 500 mg, aproximadamente 50 a aproximadamente 400, aproximadamente 50 a aproximadamente 300 por ejemplo, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 450 mg o aproximadamente 500 mg y más preferentemente aproximadamente 50 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 300 mg e incluso más preferentemente aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg o aproximadamente 300 mg del anticuerpo o fragmento de 45 unión al antígeno del mismo por dosis.

En un vigésimo segundo aspecto, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprendido en una de las composiciones farmacéuticas según el décimo noveno aspecto.

50 En un vigésimo tercer aspecto, la presente divulgación se refiere a una forma de dosificación unitaria que comprende el anticuerpo, fragmento de unión al antígeno del mismo o composición farmacéutica desvelada en el presente documento.

55 En un vigésimo cuarto aspecto, la presente divulgación se refiere a un artículo de fabricación que comprende la composición farmacéutica desvelada en el presente documento, la formulación líquida desvelada en el presente documento o la formulación seca desvelada en el presente documento, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo desvelado en el presente documento o una o más formas de dosificación unitaria desveladas en el presente documento y un recipiente o envase.

En un vigésimo quinto aspecto, la presente divulgación se refiere a un artículo de fabricación que comprende: (a) un material de envasado; (b) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h; y (c) una etiqueta o prospecto contenido dentro del material de envasado que indica que los pacientes

que reciben tratamiento con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno pueden tratarse para una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares y adicionalmente que indica que pueden tratarse sujetos que se encuentran en uno o más grupos de sujetos como se cita en el décimo tercer aspecto.

5 En un vigésimo sexto aspecto, la presente divulgación se refiere a un artículo de fabricación que comprende: (a) un material de envasado; (b) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h; y (c) una etiqueta o prospecto contenido dentro del material de envasado que indica que los pacientes que reciben tratamiento con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno pueden tratarse para una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares y adicionalmente que indica que el tratamiento de pacientes con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo está contraindicado para pacientes que pertenecen a uno o más grupos de sujetos como se cita en el décimo cuarto aspecto.

10 En un vigésimo séptimo aspecto, la presente divulgación se refiere a una composición farmacéutica o anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo desvelado en el presente documento, tal como según el décimo quinto o décimo noveno aspecto de la presente divulgación, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto.

15 En un vigésimo octavo aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de preparación de una composición farmacéutica desvelada en el presente documento, por ejemplo, según el décimo noveno aspecto, que comprende mezclar el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo y opcionalmente el inhibidor de HMG-CoA reductasa con uno o más excipientes farmacéuticos o vehículos.

20 En un vigésimo noveno aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de preparación de una forma de dosificación unitaria que comprende administrar una cantidad de la composición farmacéutica, del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, de la formulación líquida o de la formulación seca desvelada en el presente documento que comprende una o más dosis del anticuerpo o fragmento de antígeno del mismo y opcionalmente del inhibidor de HMG-CoA reductasa y adaptarlos como unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para administración humana y/o animal.

25 En un trigésimo aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de preparación o ensamblaje de un artículo de fabricación desvelado en el presente documento que comprende envasar la composición farmacéutica, del anticuerpo según, de la formulación líquida, de la formulación seca según o de o más de las formas de dosificación unitaria desveladas en el presente documento en un recipiente, opcionalmente junto con una o más de lo siguiente: una etiqueta, instrucciones para su uso, un dispositivo de administración.

30 En un trigésimo primer aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de prueba de la eficacia de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h para el tratamiento de una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares, comprendiendo dicho método:

35 tratar una población de pacientes seleccionada con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, en el que cada paciente en dicha población tiene un nivel de colesterol de C-LDL superior a 100 mg/dl; y

40 determinar la eficacia de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo determinando el nivel de C-LDL en la población de pacientes antes y después de la administración de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, en el que una reducción del nivel de C-LDL de al menos el 25 % con respecto a un nivel predosis en al menos el 75 % de la población de pacientes indica que dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es eficaz para el tratamiento de dicha enfermedad o afección en dicha población de pacientes;

45 en el que cada paciente se clasifica en uno o más grupos de sujetos como se cita en el décimo tercer aspecto.

En un trigésimo segundo aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de prueba de la eficacia de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h para el tratamiento de una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares, comprendiendo dicho método:

50 determinar la eficacia de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se ha usado para el tratamiento de una población de pacientes seleccionada de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, en el que cada paciente en dicha población tiene un nivel de colesterol de C-LDL superior a 100 mg/dl determinando el nivel de C-LDL en la población de pacientes antes y después de la administración de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, en el que una reducción del nivel de C-LDL de al menos el 25 % con respecto a un nivel predosis en al menos el 75 % de la población de pacientes indica que dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es eficaz para el tratamiento de dicha enfermedad o afección en dicha población de pacientes;



en el que cada paciente se clasifica en uno o más grupos de sujetos como se cita en el décimo tercer aspecto.

En un trigésimo tercer aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de prueba de la eficacia de un compuesto en reducir los niveles de colesterol en un sujeto, que comprende las etapas: (a) proporcionar un roedor; (b) administrar un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9 al roedor; (c) administrar un compuesto de prueba a dicho roedor; (d) determinar el efecto del compuesto de prueba en el roedor, en el que una reducción del nivel de colesterol en el roedor en comparación con el nivel de colesterol de un animal de control indica que el compuesto de prueba es eficaz en reducir los niveles de colesterol en un sujeto, en el que el animal de control es de la misma especie que dicho roedor, y en el que el animal de control no ha sido expuesto al compuesto de prueba.

En un trigésimo cuarto aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de potenciamiento de la actividad de reducción de C-LDL en un sujeto que recibe la terapia de estatinas, comprendiendo el método administrar al sujeto un anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, que se une específicamente a proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana (PCSK9h), en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra en una cantidad de dosis dentro del intervalo de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg, potenciando así la actividad reductora de C-LDL de la terapia de estatinas en el sujeto.

En un trigésimo quinto aspecto, la presente divulgación se refiere a un kit para tratar niveles elevados de colesterol de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) en un sujeto, comprendiendo el kit (a) forma farmacéutica de dosificación unitaria que comprende un anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, que se une específicamente a PCSK9h; y vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno está presente en una cantidad de dosis dentro del intervalo de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg; y (b) una etiqueta o prospecto con instrucciones para su uso.

En un trigésimo sexto aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de tratamiento de un sujeto que padece una enfermedad o trastorno caracterizado por niveles elevados de colesterol de lipoproteína de baja densidad (C-LDL), comprendiendo el método:

(a) seleccionar un sujeto con un nivel de C-LDL en sangre superior a 100 mg/dl; y

(b) administrar a dicho sujeto una composición que comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana (PCSK9h); reduciéndose así los niveles de colesterol en el sujeto en necesidad del mismo.

En un vigésimo sexto aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de reducción de los niveles de colesterol en un sujeto en necesidad del mismo, que comprende:

(a) seleccionar un sujeto con un nivel de colesterol de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) en sangre superior a 100 mg/dl; y

(b) administrar a dicho sujeto una composición que comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana (PCSK9h); reduciéndose así los niveles de colesterol en el sujeto en necesidad del mismo.

Otras realizaciones serán evidentes a partir de una revisión de la siguiente descripción detallada.

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Fig. 1 muestra el porcentaje de reducción en los niveles de colesterol de LDL (C-LDL) con respecto al nivel inicial para tres grupos de pacientes tras el tratamiento con el anticuerpo anti-PCSK9 316P. Estos grupos de pacientes son: (1) pacientes con hipercolesterolemia familiar (HeFH); (2) pacientes con otras formas de hipercolesterolemia primaria (no FH) con dieta y con terapia de atorvastatina estable; y (3) pacientes con otras formas de hipercolesterolemia primaria (no FH) con dieta solo. Se administró una dosis de 50 mg del anticuerpo anti-PCSK9 por vía subcutánea en los días 1, 29 y 43. Los resultados de los grupos de pacientes que recibieron el anticuerpo (50-mg-FH-no; 50-mg-FH-Sí; 50-mg-combinado) se muestran en líneas continuas, mientras que los resultados de los pacientes que recibieron un placebo (PBO-FH-no; PBO-FH-Sí; PBO-combinado) se muestran en líneas discontinuas.

La Fig. 2 muestra el porcentaje de reducción en los niveles de colesterol de LDL (C-LDL) con respecto al nivel inicial para tres grupos de pacientes tras el tratamiento con el anticuerpo anti-PCSK9 316P. Estos grupos de pacientes son: (1) pacientes con hipercolesterolemia familiar (HeFH); (2) pacientes con otras formas de hipercolesterolemia primaria (no FH) con dieta y con terapia de atorvastatina estable; y (3) pacientes con otras formas de hipercolesterolemia primaria (no FH) con dieta solo. Se administró una dosis de 100 mg del anticuerpo anti-PCSK9 por vía subcutánea en los días 1, 29 y 43. Los resultados de los grupos de pacientes que recibieron el anticuerpo (100-mg-FH-no; 100-mg-FH-Sí; 100-mg-combinado) se muestran en líneas continuas, mientras que los resultados de los pacientes que recibieron un placebo (PBO-FH-no; PBO-FH-Sí; PBO-combinado) se muestran en líneas discontinuas.

La Fig. 3 muestra el porcentaje reducción en los niveles de colesterol de LDL (C-LDL) con respecto al nivel inicial para tres grupos de pacientes tras el tratamiento con el anticuerpo anti-PCSK9 316P. Estos grupos de pacientes son: (1) pacientes con hipercolesterolemia familiar (HeFH); (2) pacientes con otras formas de hipercolesterolemia primaria (no FH) con dieta y con terapia de atorvastatina estable; y (3) pacientes con otras formas de hipercolesterolemia primaria (no FH) con dieta solo. Se administró una dosis de 150 mg del anticuerpo anti-PCSK9 por vía subcutánea en los días 1, 29 y 43. Los resultados de los grupos de pacientes que recibieron el anticuerpo (150-mg-FH-no; 150-mg-FH-Sí; 150-mg-combinado) se muestran en líneas continuas, mientras que los resultados de los pacientes que recibieron un placebo (PBO-FH-no; PBO-FH-Sí; PBO-combinado) se muestran en líneas discontinuas.

La Fig. 4 muestra el diseño de estudio del estudio 2 para el grupo de los pacientes que reciben un tratamiento hipolipemiante distinto de atorvastatina o no a dosis estable de atorvastatina 10 mg durante al menos 6 semanas antes de la selección, o pacientes sin fármaco previo.

El Fig. 5 muestra el diseño de estudio del estudio 2 para el grupo de los pacientes que reciben atorvastatina 10 mg a dosis estable durante al menos 6 semanas antes de la selección.

La Fig. 6 muestra la distribución de los valores medios de C-LDL de pacientes del estudio 1 que reciben anticuerpo 316P en el tratamiento de atorvastatina estable durante 12 semanas y LOCF (arrastré del último dato). El estudio se diseñó para evaluar la eficacia y seguridad del anticuerpo 316P en pacientes con hipercolesterolemia con C-LDL elevado ( $\geq 100$  mg/dl o 2,59 mmol/l) tratados con dosis estable de atorvastatina (10 mg, 20 mg o 40 mg). Durante el período de preinclusión, los pacientes se estabilizaron al tratamiento de atorvastatina (10 mg, 20 mg o 40 mg) si no lo estaban todavía. Después de una semana adicional, los pacientes se aleatorizaron centralmente mediante IVRS/IWRS en una relación 1:1:1:1:1 con respecto a uno de los 6 grupos de tratamiento (placebo, 316P 50 mg E2W, 316P 100 mg E2W, 316P 150 mg E2W, 316P 200 mg E4W, 316P 300 mg E4W) y se trataron en una forma de doble ciego durante aproximadamente 12 semanas. La aleatorización se estratifica por la dosis de atorvastatina recibida antes de la aleatorización. Durante el período de tratamiento de doble ciego, los pacientes volvieron al sitio cada 2 semanas para recibir el tratamiento de estudio (316P o placebo). El período de tratamiento de doble ciego fue entonces seguido por un período de seguimiento de 8 semanas. Como puede obtenerse de la Figura 6, todos los grupos de tratamiento, excepto el grupo de los pacientes que recibió placebo, tuvieron una reducción significativa y persistente de los niveles de C-LDL con respecto al período de estudio completo.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

### Definiciones

Antes de que la presente invención se describa en detalle a continuación, debe entenderse que la terminología usada en el presente documento es con el fin de describir realizaciones particulares solo, y no pretende limitar el alcance de la presente invención que se limitará solo por las reivindicaciones adjuntas. A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen los mismos significados que comúnmente son entendidos por un experto habitual en la materia a la que pertenece la presente invención.

Preferentemente, los términos usados en el presente documento se definen como se describe en "A multilingual glossary of biotechnological terms: (IUPAC Recommendations)", Leuenberger, H.G.W, Nagel, B. y Kölbl, H. eds. (1995), Helvetica Chimica Acta, CH-4010 Basilea, Suiza).

En toda esta memoria descriptiva y las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto lo requiera de otro modo, se entenderá que la palabra "comprender", y variaciones tales como "comprende" y "que comprende", implican la inclusión de un número entero establecido o etapa o grupo de números enteros o etapas, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o etapa o grupo de número entero o etapa.

Se citan varios documentos (por ejemplo: patentes, solicitudes de patente, publicaciones científicas, especificaciones del fabricante, instrucciones, presentaciones de secuencias con número de acceso de GenBank) en todo el texto de esta memoria descriptiva. Nada en el presente documento debe interpretarse como una admisión de que la invención no tenga derecho a anteceder tal divulgación en virtud de la invención previa. En caso de un conflicto entre las definiciones o enseñanzas de tales referencias y las definiciones incorporadas o enseñanzas citadas en la presente memoria descriptiva, el texto de la presente memoria descriptiva tiene prioridad.

Secuencias: Todas las secuencias citadas en el presente documento se desvelan en el listado de secuencias adjunto que, con su contenido y divulgación completos, es una parte de esta memoria descriptiva.

El término "aproximadamente", cuando se usa a propósito de un valor numérico, se indica para englobar valores numéricos dentro de un intervalo que tiene un límite inferior que es el 5 % más pequeño que el valor numérico indicado y que tiene un límite superior que es el 5 % más grande que el valor numérico indicado.

El término "proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana" o "PCSK9h", como se usa en el presente documento, se refiere a PCSK9h que tiene la secuencia de ácidos nucleicos mostrada en SEQ ID NO: 754 y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 755, o un fragmento biológicamente activo de las mismas.

Los términos "se une específicamente a", "unión específica" o similares, significan que un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo forma un complejo con un antígeno que es relativamente estable en condiciones fisiológicas. La unión específica puede caracterizarse por una constante de disociación en equilibrio de al menos aproximadamente  $1 \times 10^{-6}$  M o menos (por ejemplo, una  $K_D$  más pequeña indica una unión más fuerte). Métodos de determinación de si dos moléculas se unen específicamente son muy conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, diálisis en equilibrio, resonancia de plasmones superficiales. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a PCSK9h puede, sin embargo, presentar reactividad cruzada con otros antígenos tales como moléculas de PCSK9 de otras especies. Además, anticuerpos multi-específicos (por ejemplo, biespecíficos) que se unen a PCSK9h y uno o más antígenos adicionales se consideran, sin embargo, anticuerpos que "se unen específicamente" a PCSK9h, como se usa en el presente documento.

El término " $K_D$ ", como se usa en el presente documento, pretende referirse a la constante de disociación en equilibrio de una interacción anticuerpo-antígeno particular. La constante de disociación en equilibrio normalmente se mide en "mol/l" (abreviada "M").

Por el término "velocidad de disociación", " $k_{dis}$ " o " $k_d$ " se indica un anticuerpo que se disocia de PCSK9h con una constante de velocidad de  $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  o menos, preferentemente  $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  o menos, como se ha determinado por resonancia de plasmones superficiales, por ejemplo, BIACORE™.

El término anticuerpo de "alta afinidad" se refiere a aquellos mAb que tienen una afinidad de unión a PCSK9h de al menos  $10^{-10}$  M; preferentemente  $10^{-11}$  M; incluso más preferentemente  $10^{-12}$  M, como se mide por resonancia de plasmones superficiales, por ejemplo, BIACORE™ o ELISA de afinidad en disolución.

El término "resonancia de plasmones superficiales", como se usa en el presente documento, se refiere a un fenómeno óptico que permite el análisis de interacciones bioespecíficas en tiempo real por detección de alteraciones en las concentraciones de proteína dentro de una matriz de biosensores, por ejemplo, usando el sistema BIACORE™ (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Suecia y Piscataway, N.J.).

Un "epítipo", también conocido como determinante antigénico, es la región de un antígeno que es reconocida por el sistema inmunitario, específicamente por anticuerpos, linfocitos B o linfocitos T. Como se usa en el presente documento, un "epítipo" es la parte de un antígeno capaz de unirse a un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo como se describe en el presente documento. En este contexto, el término "unión" se refiere preferentemente a una "unión específica", como se define en el presente documento. Los epítopes normalmente consisten en agrupaciones superficiales químicamente activas de moléculas tales como aminoácidos, cadenas laterales de azúcar, grupos fosforilo o grupos sulfonilo, y pueden tener características estructurales tridimensionales específicas y/o características de carga específicas. Epítopes conformacionales y no conformacionales pueden distinguirse en que la unión al primero, pero no al último, se pierde en presencia de disolventes desnaturizantes.

Un "paratopo" es la parte de un anticuerpo que se une específicamente al epítipo.

El término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, pretende referirse a moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas de polipéptidos, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L), interconectadas por enlaces disulfuro. El término "anticuerpo" también incluye todas las formas recombinantes de anticuerpos, en particular de los anticuerpos descritos en el presente documento, por ejemplo, anticuerpos expresados en procariotas, anticuerpos sin glucosilar, y cualquier fragmento de anticuerpo de unión al antígeno y derivados como se describe más adelante. Cada cadena pesada está comprendida de una región variable de la cadena pesada ("HCVR" o "VH") y una región constante de la cadena pesada (comprendida de los dominios CH1, CH2 y CH3). Cada cadena ligera está comprendida de una región variable de la cadena ligera ("LCVR" o "VL") y una región constante de la cadena ligera (CL). Las regiones VH y VL pueden subdividirse adicionalmente en regiones de hipervariabilidad, llamadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, llamadas regiones estructurales (FR). Cada VH y VL está compuesta por tres CDRs y cuatro FRs, dispuestas del extremo amino al extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras contienen un dominio de unión que interacciona con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos pueden mediar en la unión de la inmunoglobulina a tejidos o factores de hospedador, que incluyen diversas células del sistema inmunitario (por ejemplo, células efectoras) y el primer componente (C1q) del sistema del complemento clásico.

También es posible la sustitución de uno o más restos de CDRs o la omisión de uno o más CDRs. Se han descrito anticuerpos en la bibliografía científica en los que puede prescindirse de una o dos CDR para la unión. Padlan et al. (1995 FASEB J. 9:133-139) analizaron las regiones de contacto entre anticuerpos y sus antígenos, basándose en estructuras cristalinas publicadas, y llegaron a la conclusión de que solo aproximadamente de un quinto a un tercio de los restos de CDRs se ponen en realidad en contacto con el antígeno. Padlan también encontró muchos

anticuerpos en los que una o dos CDR no tenían aminoácidos en contacto con un antígeno (véase, por tanto, Vajdos et al. 2002 J Mol Biol 320:415-428).

Pueden identificarse restos de CDR que no se ponen en contacto con el antígeno basándose en estudios previos (por ejemplo, los restos H60-H65 en CDRH2 no son frecuentemente requeridos), de regiones de CDRs de Kabat que se encuentran fuera de las regiones de Chothia, por modelado molecular y/o empíricamente. Si se omite una CDRs o resto(s) de la misma, normalmente se sustituye con un aminoácido que ocupa la posición correspondiente en otra secuencia de anticuerpo humano o una consenso de tales secuencias. Posiciones para sustitución dentro de CDR y aminoácidos a sustituir también pueden seleccionarse empíricamente. Sustituciones empíricas pueden ser sustituciones conservativas o no conservativas.

El término "fragmento de unión al antígeno" de un anticuerpo (o simplemente "porción de unión"), como se usa en el presente documento, se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que retienen la capacidad para unirse específicamente a PCSK9h. Se ha mostrado que la función de unión al antígeno de un anticuerpo puede realizarse por fragmentos de un anticuerpo de longitud completa. Ejemplos de fragmentos de unión englobados dentro del término "fragmento de unión al antígeno" de un anticuerpo incluyen (i) fragmentos Fab, fragmentos monovalentes que consisten en los dominios VL, VH, CL y CH; (ii) fragmentos F(ab)<sub>2</sub>, fragmentos bivalentes que comprenden dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; (iii) fragmentos Fd que consiste en los dominios VH y CH; (iv) fragmentos Fv que consiste en los dominios VL y VH de un único brazo de un anticuerpo, (v) fragmentos dAb (Ward et al., (1989) Nature 341: 544-546), que consisten en un dominio VH; (vi) regiones determinantes de la complementariedad (CDR) aisladas, y (vii) combinaciones de dos o más CDRs aisladas que pueden opcionalmente unirse por un conector sintético. Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv, VL y VH, están codificados por genes separados, pueden unirse, usando métodos recombinantes, por un conector sintético que les permite prepararse como una proteína de una sola cadena en la que el par de regiones VL y VH forma moléculas monovalentes (conocidas como Fv monocatenaria (scFv); véase, por ejemplo, Bird et al. (1988) Science 242: 423-426; y Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883). Tales anticuerpos monocatenarios también pretenden estar englobados dentro del término "fragmento de unión al antígeno" de un anticuerpo. Un ejemplo adicional es una proteína de fusión de inmunoglobulina de dominio de unión que comprende (i) un polipéptido de dominio de unión que está fusionado con un polipéptido de la región bisagra de inmunoglobulina, (ii) una región constante de la cadena pesada de la inmunoglobulina CH2 fusionada con la región bisagra, y (iii) una región constante de la cadena pesada de la inmunoglobulina CH3 fusionada con la región constante CH2. El polipéptido del dominio de unión puede ser una región variable de la cadena pesada o una región variable de la cadena ligera. Las proteínas de fusión de inmunoglobulina del dominio de unión se desvelan además en los documentos US 2003/0118592 y US 2003/0133939. Estos fragmentos de anticuerpos se obtienen usando técnicas convencionales conocidas para aquellos expertos en la técnica, y los fragmentos se criban para utilidad del mismo modo que los anticuerpos intactos. Ejemplos adicionales de "fragmentos de unión al antígeno" son los llamados microanticuerpos, que derivan de CDRs individuales. Por ejemplo, Heap et al. describen un microanticuerpo de 17 restos de aminoácido derivado de la CDR3 de la cadena pesada de un anticuerpo dirigido contra la glucoproteína de la envuelta gp120 de VIH-1 (Heap CJ et al. (2005) J. Gen. Virol. 86:1791-1800). Otros ejemplos incluyen miméticos de anticuerpos pequeños que comprenden dos o más regiones CDR que están fusionadas entre sí, preferentemente por regiones estructurales relacionadas. Un mimético de anticuerpos pequeño tal que comprende CDR1 de VH y CDR3 de VL unidas por la FR2 de VH relacionada se ha descrito por Qiu et al. (Qiu X-Q, et al. (2007) Nature biotechnology 25(8):921-929).

Así, el término "anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo", como se usa en el presente documento, se refiere a moléculas de inmunoglobulina y porciones inmunológicamente activas de moléculas de inmunoglobulina, es decir, moléculas que contienen un sitio de unión al antígeno que se unen inmuno-específicamente a un antígeno.

Anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos utilizables en la invención pueden ser de cualquier origen animal que incluye aves y mamíferos. Preferentemente, los anticuerpos o fragmentos son de origen humano, de chimpancé, roedor (por ejemplo, ratón, rata, cobaya o conejo), pollo, pavo, cerdo, oveja, cabra, camello, vaca, caballo, burro, gato o perro. Es particularmente preferido que los anticuerpos sean de origen humano o murino. Los anticuerpos desvelados en el presente documento también incluyen moléculas quiméricas en las que una región constante de anticuerpo derivada de una especie, preferentemente humana, se combina con el sitio de unión al antígeno derivado de otra especie, por ejemplo, ratón. Además, los anticuerpos desvelados en el presente documento incluyen moléculas humanizadas en las que los sitios de unión al antígeno de un anticuerpo derivado de una especie no humana (por ejemplo, de ratón) se combinan con regiones constantes y estructurales de origen humano.

Como se ejemplifica en el presente documento, los anticuerpos desvelados en el presente documento pueden obtenerse directamente de hibridomas que expresan el anticuerpo, o pueden clonarse y expresarse recombinantemente en una célula hospedadora (por ejemplo, una célula CHO, o una célula linfocítica). Ejemplos adicionales de células hospedadoras son microorganismos, tales como *E. coli*, y hongos, tales como levadura. Alternativamente, pueden producirse recombinantemente en un animal no humano transgénico o planta.

El término "anticuerpo quimérico" se refiere a aquellos anticuerpos en los que una porción de cada una de las secuencias de aminoácidos de cadenas pesadas y ligeras es homóloga a secuencias correspondientes en

anticuerpos derivados de una especie particular o que pertenecen a una clase particular, mientras que el segmento restante de la cadena es homólogo a secuencias correspondientes en otra especie o clase. Normalmente, la región variable de tanto las cadenas ligeras como pesadas imita las regiones variables de anticuerpos derivados de una especie de mamíferos, mientras que las porciones constantes son homólogas a secuencias de anticuerpos derivadas de otra. Una clara ventaja de tales formas quiméricas es que la región variable puede derivar convenientemente de fuentes presentemente conocidas usando linfocitos B fácilmente disponibles o hibridomas de organismos hospedadores no humanos en combinación con regiones constantes derivadas de, por ejemplo, preparaciones de células humanas. Aunque la región variable tiene la ventaja de facilidad de preparación y la especificidad no está afectada por la fuente, es menos probable que la región constante que es humana provoque una respuesta inmunitaria de un sujeto humano cuando los anticuerpos se inyectan que lo que haría la región constante de una fuente no humana.

El término "anticuerpo humanizado" se refiere a una molécula que tiene un sitio de unión al antígeno que deriva sustancialmente de una inmunoglobulina de una especie no humana, en el que la restante estructura de inmunoglobulina de la molécula se basa en la estructura y/o secuencia de una inmunoglobulina humana. El sitio de unión al antígeno puede o bien comprender dominios variables completos fusionados en dominios constantes, o solo las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) injertadas en regiones estructurales apropiadas en los dominios variables. Sitios de unión al antígeno pueden estar no mutados o modificados por una o más sustituciones de aminoácidos, por ejemplo, modificadas para parecerse a inmunoglobulinas humanas más estrechamente. Algunas formas de anticuerpos humanizados preservan todas las secuencias de CDR (por ejemplo, un anticuerpo de ratón humanizado que contiene las seis CDRs del anticuerpo de ratón). Otras formas tienen una o más CDRs que son CDRs que están alteradas con respecto al anticuerpo original.

Diferentes métodos para humanizar anticuerpos son conocidos para el experto, como se revisa por Almagro y Fransson (Almagro JC y Fransson J (2008) *Frontiers in Bioscience* 13:1619-1633). Almagro y Fransson distinguen entre enfoques racionales y enfoques empíricos. Los enfoques racionales se caracterizan por generar algunas variantes del anticuerpo modificado y evaluar su unión o cualquier otra propiedad de interés. Si las variantes diseñadas no producen los resultados esperados, se inicia un nuevo ciclo de diseño y evaluación de la unión. Enfoques racionales incluyen injerto de CDR, acondicionamiento superficial, superhumanización y optimización del contenido de cadenas humanas. A diferencia, los enfoques empíricos se basan en la generación de grandes bibliotecas de variantes humanizadas y selección de los mejores clones usando tecnologías de enriquecimiento o cribado de alto rendimiento. Por consiguiente, los enfoques empíricos dependen de una selección fiable y/o sistema de cribado que es capaz de buscar a través de un amplio espacio de variantes de anticuerpo. Las tecnologías de presentación *in vitro*, tales como presentación en fagos y presentación en ribosomas, cumplen estos requisitos y son muy conocidas para el experto. Enfoques empíricos incluyen bibliotecas de FR, selección guiada, barajado de regiones estructurales y Humaneering.

El término "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, pretende incluir anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. Los mAb humanos desvelados en el presente documento pueden incluir restos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis al azar o específica de sitio *in vitro* o por mutación somática *in vivo*), por ejemplo, en las CDRs y en particular CDR3. Sin embargo, el término "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, no pretende incluir mAb en los que secuencias de CDR derivadas de la línea germinal de otras especies de mamífero (por ejemplo, ratón), hayan sido injertadas en secuencias de FR humanas. Los anticuerpos humanos desvelados en el presente documento incluyen anticuerpos aislados de bibliotecas de inmunoglobulina humana o de animales transgénicos para una o más inmunoglobulinas humanas y que no expresan inmunoglobulinas endógenas, como se describe, por ejemplo, en la patente de EE.UU. N.º 5.939.598 por Kuchlerapati y Jakobovits.

El término "anticuerpo monoclonal", como se usa en el presente documento, se refiere a una preparación de moléculas de anticuerpo de composición molecular única. Un anticuerpo monoclonal muestra una única especificidad de unión y afinidad por un epítipo particular. En una realización, los anticuerpos monoclonales se producen por un hibridoma que incluye un linfocito B obtenido de un animal no humano, por ejemplo, ratón, fusionado con una célula inmortalizada.

El término "anticuerpo recombinante", como se usa en el presente documento, incluye todos los anticuerpos que se preparan, expresan, crean o aíslan por medios recombinantes, tales como (a) anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que es transgénico o trans cromosómico con respecto a los genes de inmunoglobulina o un hibridoma preparado a partir de los mismos, (b) anticuerpos aislados de una célula hospedadora transformada para expresar el anticuerpo, por ejemplo, a partir de un transfectoma, (c) anticuerpos aislados a partir de una biblioteca de anticuerpos combinatoria recombinante, y (d) anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implica el corte y empalme de secuencia de los genes de inmunoglobulina con otras secuencias de ADN.

El término "transfectoma", como se usa en el presente documento, incluye células hospedadoras eucariotas recombinantes que expresan un anticuerpo, tal como células CHO, células NS/O, células HEK293, células HEK293T, células vegetales, u hongos, que incluyen células de levadura.

Como se usa en el presente documento, un "anticuerpo heterólogo" se define en relación a un organismo transgénico que produce un anticuerpo tal. Este término se refiere a un anticuerpo que tiene una secuencia de aminoácidos o una secuencia de ácidos nucleicos codificante correspondiente a la encontrada en un organismo que no consiste en el organismo transgénico, y que deriva generalmente de una especie distinta del organismo transgénico.

Como se usa en el presente documento, un "anticuerpo heterohíbrido" se refiere a un anticuerpo que tiene cadenas ligeras y pesadas de diferentes orígenes de organismo. Por ejemplo, un anticuerpo que tiene una cadena pesada humana asociada a una cadena ligera murina es un anticuerpo heterohíbrido.

Así, "anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos" adecuados para su uso en la presente invención incluyen anticuerpos policlonales, monoclonales, monovalentes, biespecíficos, heteroconjugados, multiespecíficos, recombinantes, heterólogos, heterohíbridos, quiméricos, humanizados (en particular injertados en CDR), desimmunizados, o humanos, fragmentos Fab, fragmentos Fab', fragmentos F(ab')<sub>2</sub>, fragmentos producidos por una biblioteca de expresión de Fab, Fd, Fv, Fvs unidos por disulfuro (dsFv), anticuerpos monocatenarios (por ejemplo, scFv), diacuerpos o tetracuerpos (Holliger P. et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90(14), 6444-6448), nanocuerpos (también conocidos como anticuerpos de un solo dominio), anticuerpos antiidiotípicos (anti-Id) (incluyendo, por ejemplo, anticuerpos anti-Id para los anticuerpos desvelados en el presente documento) y fragmentos de unión a epítipo de cualquiera de los anteriores.

Los anticuerpos descritos en el presente documento son preferentemente aislados. Un "anticuerpo aislado", como se usa en el presente documento, pretende referirse a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros mAb que tienen diferentes especificidades antigénicas (por ejemplo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a PCSK9h está sustancialmente libre de mAb que se unen específicamente a antígenos distintos de PCSK9h). Un anticuerpo aislado que se une específicamente a PCSK9h puede, sin embargo, tener reactividad cruzada con otros antígenos, tales como moléculas de PCSK9 de otras especies.

Como se usa en el presente documento, un "antagonista de PCSK9" indica un compuesto que inhibe al menos una actividad biológica de PCSK9, preferentemente la actividad de proteínasa de PCSK9. Antagonistas de PCSK9 preferidos se caracterizan porque se unen del 10 % al 100 % (preferentemente del 50 % al 100 %) de PCSK9 presente en la sangre cuando se usan en cantidades estequiométricas. Los antagonistas de PCSK9 preferidos desvelados en el presente documento son anticuerpos neutralizantes.

Un "anticuerpo neutralizante", como se usa en el presente documento (o un "anticuerpo que neutraliza la actividad de PCSK9"), pretende referirse a un anticuerpo cuya unión a PCSK9h produce la inhibición de al menos una actividad biológica de PCSK9, preferentemente la inhibición de la actividad de proteínasa de PCSK9. Esta inhibición de la actividad biológica de PCSK9 puede evaluarse midiendo uno o más indicadores de la actividad biológica de PCSK9 por uno o más de varios ensayos *in vitro* o *in vivo* estándar conocidos en la técnica. Tales ensayos se describen, por ejemplo, en el documento US 2010/0166768 A1.

Como PCSK9 aumenta el colesterol de LDL en plasma promoviendo la degradación del receptor de LDL, la actividad de PCSK9 tiene un efecto sobre varias enfermedades asociadas a elevados niveles de colesterol de LDL en plasma. Por consiguiente, antagonistas de PCSK9, tales como anticuerpos anti-PCSK9h neutralizantes o fragmentos de unión al antígeno de los mismos, son útiles para reducir el elevado colesterol total, colesterol no HDL, colesterol de LDL y/o apolipoproteína B100 (ApoB100). Por consiguiente, los antagonistas de PCSK9 son útiles para mejorar, corregir, inhibir o prevenir varias de tales enfermedades, que incluyen sin limitación hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares.

En realizaciones específicas, los anticuerpos anti-PCSK9 o fragmentos de unión al antígeno de los mismos descritos en el presente documento pueden conjugarse con un resto terapéutico ("inmunoconjugado"), tales como una citotoxina, un fármaco quimioterapéutico, un inmunosupresor o un radioisótopo.

Una "sustitución de aminoácidos conservativa" es una en la que un resto de aminoácido está sustituido por otro resto de aminoácido que tiene una cadena lateral (grupo R) con propiedades químicas similares (por ejemplo, carga o hidrofobia). En general, una sustitución de aminoácidos conservativa no cambiará sustancialmente las propiedades funcionales de una proteína. En casos en los que dos o más secuencias de aminoácidos se diferencian entre sí por sustituciones conservativas, el porcentaje o grado de similitud puede ajustarse por lo alto para corregir la naturaleza conservativa de la sustitución. Medios de preparación de este ajuste son muy conocidos para aquellos expertos en la materia. Véase, por ejemplo, Pearson (1994) Methods Mol. Biol. 24: 307- 331. Ejemplos de grupos de aminoácidos que tienen cadenas laterales con propiedades químicas similares incluyen

1) cadenas laterales alifáticas: glicina, alanina, valina, leucina e isoleucina;

2) cadenas laterales de hidroxilo alifáticas: serina y treonina;

3) cadenas laterales que contienen amida: asparagina y glutamina;

4) cadenas laterales aromáticas: fenilalanina, tirosina y triptófano;

- 5) cadenas laterales básicas: lisina, arginina e histidina;
- 6) cadenas laterales ácidas: aspartato y glutamato, y
- 7) cadenas laterales que contienen azufre: cisteína y metionina.

Grupos de sustitución conservativa de aminoácidos preferidos son: valina-leucina-isoleucina, fenilalanina-tirosina, lisina-arginina, alanina-valina, glutamato-aspartato y asparagina-glutamina. Alternativamente, una sustitución conservativa es cualquier cambio que tiene un valor positivo en la matriz de probabilidad logarítmica PAM250 desvelada en Gonnet et al. (1992) Science 256: 1443-45. Una sustitución "moderadamente conservativa" es cualquier cambio que tiene un valor no negativo en la matriz de probabilidad logarítmica PAM250. Dado el código genético conocido, y técnicas de ADN recombinante y sintético, el científico experto puede construir fácilmente ADN que codifican variantes de aminoácidos conservativas.

Como se usa en el presente documento, "sustituciones no conservativas" o "intercambios de aminoácidos no conservativos" se definen como intercambios de un aminoácido por otro aminoácido enumerado en un grupo diferente de los siete grupos de aminoácidos estándar 1) a 7) mostrados anteriormente.

El término "identidad sustancial" o "sustancialmente idéntico", cuando se refiere a un ácido nucleico o fragmento del mismo, indica que, cuando se alinea óptimamente con inserciones o deleciones de nucleótidos apropiadas con otro ácido nucleico (o su hebra complementaria), hay identidad de secuencia de nucleótidos en al menos aproximadamente el 90 %, y más preferentemente al menos aproximadamente el 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de las bases de nucleótidos, como se mide por cualquier algoritmo de identidad de secuencia muy conocido, tal como FASTA, BLAST o GAP, como se trata más adelante.

Como se aplica a polipéptidos, el término "similitud sustancial" o "sustancialmente similar" significa que dos secuencias de péptidos, cuando se alinean óptimamente, tal como por los programas GAP o BESTFIT usando pesos de huecos por defecto, comparten al menos el 90 % de identidad de secuencia, incluso más preferentemente al menos el 95 %, 98 % o el 99 % de identidad de secuencia. Preferentemente, posiciones de restos que no son idénticas se diferencian por sustituciones conservativas de aminoácidos.

La similitud de secuencias para polipéptidos normalmente se mide usando software de análisis de secuencias. El software de análisis de proteínas hace coincidir secuencias similares usando mediciones de similitud asignadas a diversas sustituciones, deleciones y otras modificaciones, que incluyen sustituciones de aminoácidos conservativas. Por ejemplo, el software GCG contiene programas tales como GAP y BESTFIT que pueden usarse con parámetros por defecto para determinar la homología de secuencias o identidad de secuencias entre polipéptidos estrechamente relacionados, tales como polipéptidos homólogos de diferentes especies de organismos o entre una proteína natural y una muteína de la misma. Véase, por ejemplo, GCG Versión 6.1. También pueden compararse secuencias de polipéptidos usando FASTA con parámetros por defecto o recomendados; un programa en GCG Versión 6.1. FASTA (por ejemplo, FASTA2 y FASTA3) proporciona alineamientos y porcentaje de identidad de secuencias de las regiones del mejor solapamiento entre las secuencias de consulta y de búsqueda (Pearson (2000) arriba). Otro algoritmo preferido cuando se compara una secuencia desvelada en el presente documento con una base de datos que contiene un gran número de secuencias de diferentes organismos es el programa informático BLAST, especialmente BLASTP o TBLASTN, usando parámetros por defecto. Véase, por ejemplo, Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403 410 y (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389 402.

Cuando se refiere a los porcentajes de identidad de secuencia en la presente solicitud, estos porcentajes se calculan en relación con la longitud completa de la secuencia más larga, si no se indica específicamente de otro modo. Este cálculo en relación con la longitud completa de la secuencia más larga se aplica tanto a secuencias de ácidos nucleicos como a secuencias de polipéptidos.

Como se usa en el presente documento, "tratan", "tratar" o "tratamiento" de una enfermedad o trastorno significa realizar uno o más de lo siguiente: (a) reducir la gravedad y/o duración del trastorno; (b) limitar o prevenir el desarrollo de síntomas característicos del (de los) trastorno(s) que están tratándose; (c) inhibir el empeoramiento de síntomas característicos del (de los) trastorno(s) que están tratándose; (d) limitar o prevenir la reaparición del (de los) trastorno(s) en pacientes que han tenido previamente el (los) trastorno(s); y (e) limitar o prevenir la reaparición de los síntomas en pacientes que fueron previamente sintomáticos para el (los) trastorno(s).

Como se usa en el presente documento, "previenen", "prevenir", "prevención" o "profilaxis" de una enfermedad o trastorno significa prevenir que un trastorno se produzca en el sujeto.

Como se usa en el presente documento, las expresiones "es para administración" y "es para ser administrado" tienen el mismo significado que "se prepara para ser administrado". En otras palabras, la declaración de que un compuesto activo "es para administración" tiene que entenderse en que dicho compuesto activo ha sido formulado y preparado en dosis de manera que dicho compuesto activo está en un estado capaz de ejercer su actividad terapéutica.

Los términos "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad terapéutica" pretenden significar que la cantidad de un fármaco o agente farmacéutico que provocará la respuesta biológica o médica de un tejido, un sistema, animal o humano que está siendo buscada por un investigador, veterinario, doctor médico u otro profesional clínico. El término "cantidad profilácticamente eficaz" pretende significar que la cantidad de un fármaco farmacéutico que prevendrá o reducirá el riesgo de aparición del acontecimiento biológico o médico que se busca prevenir en un tejido, un sistema, animal o humano por un investigador, veterinario, doctor médico u otro profesional clínico. Particularmente, la dosificación que un paciente recibe puede seleccionarse para lograr la cantidad de reducción de colesterol de LDL (lipoproteína de baja densidad) deseada; la dosificación que un paciente recibe también puede valorarse con el tiempo con el fin de alcanzar un nivel de LDL objetivo. La pauta posológica que utiliza un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo como se describe en el presente documento está seleccionada según una variedad de factores que incluyen tipo, especie, edad, peso, índice de masa corporal, sexo y afección médica del paciente; la gravedad de la afección que va a tratarse; la potencia del compuesto elegido para ser administrado; la vía de administración; el fin de la administración; y la función renal y hepática del paciente.

Como se usa en el presente documento, un "paciente" significa cualquier animal humano o no humano, tal como mamífero, reptil o ave que puede beneficiarse de un tratamiento con los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos descritos en el presente documento. Preferentemente, un "paciente" está seleccionado del grupo que consiste en animales de laboratorio (por ejemplo, ratón o rata), animales domésticos (incluyendo, por ejemplo, cobaya, conejo, pollo, pavo, cerdo, oveja, cabra, camello, vaca, caballo, burro, gato o perro), roedor o primates que incluyen chimpancé, gorila, bonobo y seres humanos. Es particularmente preferido que el "paciente" sea un ser humano.

Los términos "sujeto" o "individuo" se usan indistintamente en el presente documento. Como se usa en el presente documento, un "sujeto" se refiere a un ser humano o animal no humano (por ejemplo, un mamífero, aviar, reptil, pez, anfibio o invertebrado; preferentemente un individuo que puede o bien beneficiarse de uno de los diferentes aspectos desvelados en el presente documento (por ejemplo, un método de tratamiento o un fármaco identificado por los presentes métodos) o que puede usarse como animal de laboratorio para la identificación o caracterización de un fármaco o un método de tratamiento. El individuo puede, por ejemplo, ser un ser humano, un animal salvaje, animal doméstico o animal de laboratorio; ejemplos comprenden: mamífero, por ejemplo, ser humano, primate no humano (chimpancé, bonobo, gorila), perro, gato, roedor (por ejemplo, ratón, cobaya, rata, hámster o conejo, caballo, burro, vaca, oveja, cabra, cerdo, camello; aviar, tal como pato, paloma, pavo, ganso o pollito; reptil tal como: tortuga, galápago, culebra, lagarto, anfibio tal como rana (por ejemplo, *Xenopus laevis*); pez tal como koi o pez cebra; invertebrado tal como un gusano (por ejemplo, *C. elegans*) o un insecto (tal como una mosca, por ejemplo, *Drosophila melanogaster*). El término individuo también comprende las diferentes etapas de desarrollo morfológico de aviares, peces, reptiles o insectos, tales como huevo, pupa, larva o imago. Se prefiere además si el sujeto es un "paciente".

Como se usa en el presente documento, "forma de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y/o animales, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo (por ejemplo, aproximadamente 50 a aproximadamente 500 mg de anticuerpo contra PCSK5 y/o de por ejemplo, 0,05 mg a 100 mg de inhibidor de HMG-CoA reductasa) calculado para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el diluyente, soporte o vehículo farmacéutico requerido. Las especificaciones para las novedosas formas de dosificación unitaria de la presente divulgación están impuestas por y son directamente dependientes de (a) las características únicas del material activo y el efecto terapéutico particular que va a lograrse, y (b) la limitación inherente en la técnica de combinar un material activo tal para uso terapéutico en animales o seres humanos, como se desvela en esta memoria descriptiva, siendo estas características de la presente divulgación. Ejemplos de formas de dosificación unitaria adecuadas según la presente divulgación son viales, comprimidos, cápsulas, trociscos, supositorios, sobres de polvo, obleas, sellos, ampollas, múltiples segregados de cualquiera de los anteriores, y otras formas como se describe en el presente documento o generalmente conocidas en la técnica. Una o más de tales formas de dosificación unitaria del anticuerpo pueden estar comprendidas en un artículo de fabricación desvelado en el presente documento, que opcionalmente comprende además una o más formas de dosificación unitaria de un inhibidor de HMG-CoA reductasa (por ejemplo, un envase alveolado de comprimidos que comprenden como principio activo el inhibidor de HMG-CoA reductasa).

El término "material activo" se refiere a cualquier material con actividad terapéutica, tal como uno o más principios activos. Los principios activos que van a emplearse como agentes terapéuticos pueden ser fácilmente preparados en tal forma de dosificación unitaria con el empleo de materiales farmacéuticos que ellos mismos están disponibles en la técnica y pueden prepararse por procedimientos establecidos.

Las siguientes preparaciones son ilustrativas de la preparación de las formas de dosificación unitaria de la presente divulgación, y no como una limitación de las mismas. Pueden prepararse varias formas de dosificación que forman parte de presente divulgación. Por ejemplo, una dosificación unitaria por vial puede contener 0,5 ml, 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml, 6 ml, 7 ml, 8 ml, 9 ml, 10 ml, 15 ml o 20 ml de anticuerpo contra PCSK5 o un fragmento del mismo que oscila de aproximadamente 40 a aproximadamente 500 mg de anticuerpo contra PCSK5. Si fuera necesario, estas preparaciones pueden ajustarse a una concentración deseada añadiendo un diluyente estéril a cada vial. En una realización, los componentes de formulación desvelados en el presente documento se suministran ya sea por separado o mezclados juntos en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como un polvo liofilizado seco o



concentrado sin agua en un envase herméticamente sellado tal como un vial, una ampolla o sobre que indica la cantidad de agente activo. Donde la composición va a administrarse por infusión, puede ser dispensada con una botella de infusión que contiene agua de calidad farmacéutica estéril o solución salina. Donde la composición se administra mediante inyección, puede proporcionarse una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina de manera que los componentes puedan mezclarse antes de la administración.

Las formulaciones desveladas en el presente documento incluyen composiciones de fármaco a granel útiles en la fabricación de composiciones farmacéuticas (por ejemplo, composiciones que son adecuadas para administración a un sujeto o paciente) que pueden usarse en la preparación de formas de dosificación unitaria. En una realización preferida, una composición desvelada en el presente documento es una composición farmacéutica. Tales composiciones comprenden una cantidad profilácticamente o terapéuticamente eficaz de uno o más agentes profilácticos o terapéuticos (por ejemplo, un anticuerpo desvelado en el presente documento u otro agente profiláctico o terapéutico), y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Preferentemente, las composiciones farmacéuticas se formulan para ser adecuadas para la vía de administración a un sujeto.

Los materiales o componentes activos (por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de los mismos e inhibidores de HMG-CoA reductasa) pueden formularse como diversas formas de dosificación que incluyen formas de dosificación sólidas para administración por vía oral tales como cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos, formas de dosificación líquidas para administración por vía oral tales como emulsiones, microemulsiones, disoluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables, preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles, composiciones para administración rectal o vaginal, preferentemente supositorios, y formas de dosificación para administración tópica o transdérmica tales como pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, disoluciones, sprays, inhalantes o parches.

En una realización específica, el término "farmacéuticamente aceptable" significa autorizado por una agencia reguladora del gobierno federal de los EE.UU. o estatal o la AEM (Agencia Europea del Medicamento) o enumerada en la Farmacopea de los EE.UU. (United States Pharmacopeia-33/National Formulary-28 Reissue, publicado por United States Pharmacopeia Convention, Inc., Rockville Md., fecha de publicación: Abril de 2010) u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales, y más particularmente en seres humanos. El término "vehículo" se refiere a un diluyente, adyuvante (por ejemplo, adyuvante de Freund (completo y incompleto)), excipiente, o vehículo con el que se administra el fármaco terapéutico. Tales vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua y aceites, que incluyen aquellos de origen de petróleo, animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo. El agua es un vehículo preferido cuando la composición farmacéutica se administra por vía intravenosa. También pueden emplearse soluciones salinas y disoluciones acuosas de dextrosa y glicerol como vehículos líquidos, particularmente para soluciones inyectables. Excipientes farmacéuticos adecuados incluyen almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, caliza, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro sódico, leche desnatada en polvo, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol. Para el uso de excipientes (adicionales) y su uso, véase también "Handbook of Pharmaceutical Excipients", quinta edición, R.C. Rowe, P.J. Seskey y S.C. Owen, Pharmaceutical Press, London, Chicago. La composición, si se desea, también puede contener cantidades menores de agentes humectantes o emulsionantes, o agentes de tamponamiento del pH. Estas composiciones pueden tomar la forma de soluciones, suspensiones, emulsión, comprimidos, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación sostenida. La formulación oral puede incluir vehículos estándar tales como grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, celulosa, carbonato de magnesio. Ejemplos de vehículos farmacéuticos adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" por E. W. Martin. Tales composiciones contendrán una cantidad profilácticamente o terapéuticamente eficaz del anticuerpo, preferentemente en forma purificada, junto con una cantidad adecuada de vehículo de manera que se proporcione la forma para la apropiada administración al paciente. La formulación debe adaptarse al modo de administración.

Generalmente, los componentes de composiciones desvelados en el presente documento se suministran ya sea por separado o mezclados juntos en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como una formulación seca para disolución tal como un polvo liofilizado, polvo secado por congelación o concentrado sin agua en un envase herméticamente sellado tal como una ampolla o sobre que indica la cantidad de agente activo. Los componentes de composiciones desvelados en el presente documento también pueden suministrarse como formulación líquida mezclada (es decir, disolución para inyección o infusión) en un envase herméticamente sellado tal como una ampolla, sobre, una jeringa precargada o autoinyector, o un cartucho para una jeringa o aplicador reutilizable (por ejemplo, pluma o autoinyector). Donde la composición va a administrarse por infusión, puede dispensarse con una botella para infusión que contiene agua estéril de calidad farmacéutica o solución salina. Donde la composición se administra mediante inyección, puede proporcionarse una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina de manera que los componentes puedan mezclarse antes de la administración.

La divulgación también proporciona que la formulación se envase en un envase herméticamente sellado tal como una ampolla o sobre que indica la cantidad de anticuerpo. En una realización, la formulación desvelada en el presente documento que comprende un anticuerpo se suministra como una formulación seca, tal como un polvo liofilizado esterilizado, polvo secado por congelación, polvo secado por pulverización o concentrado sin agua en un envase herméticamente sellado y puede reconstituirse, por ejemplo, con agua o solución salina a la concentración apropiada para administración a un sujeto. En otra realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del

mismo se suministra como una formulación líquida tal como una disolución para inyección o infusión. En una realización, la formulación desvelada en el presente documento que comprende un anticuerpo se suministra como una formulación seca o como una formulación líquida en un envase herméticamente sellado a una dosificación unitaria de al menos 40 mg, al menos 50 mg, más preferentemente al menos 75 mg, al menos 100 mg, al menos 150 mg, al menos 200 mg, al menos 250 mg, al menos 300 mg, al menos 350 mg, al menos 400 mg, al menos 450 mg, o al menos 500 mg, de anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo. La formulación liofilizada desvelada en el presente documento que comprende un anticuerpo debe almacenarse a entre 2 y 8 °C en su recipiente original y el anticuerpo debe administrarse en el plazo de 12 horas, preferentemente en el plazo de 6 horas, en el plazo de 5 horas, en el plazo de 3 horas, o en el plazo de 1 hora después de ser reconstituido. La formulación desvelada en el presente documento que comprende anticuerpos pueden formularse como formas neutras o de sal. Sales farmacéuticamente aceptables incluyen aquellas formadas con aniones tales como aquellas derivadas de ácidos clorhídrico, fosfórico, acético, oxálico, tartárico, y aquellas formadas con cationes tales como aquellas derivadas de hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio, férricos, isopropilamina, trietilamina, 2-etilaminoetanol, histidina, procaína.

Sujetos adultos se caracterizan por tener "hipertensión" o una hipertensión arterial cuando tienen una tensión arterial sistólica superior a 140 mmHg y/o una tensión arterial diastólica superior a 90 mmHg.

Poblaciones específicas tratables por los métodos terapéuticos desvelados en el presente documento incluyen sujetos con uno o más de las siguientes afecciones: sujetos indicados para aféresis de LDL, sujetos con mutaciones activantes de PCSK9 (mutaciones de aumento de función, "GOF"), sujetos con niveles elevados de colesterol total, sujetos con niveles elevados de colesterol de lipoproteína de baja densidad (C-LDL), sujetos con hipercolesterolemia primaria, tales como sujetos primarios con hipercolesterolemia familiar o no familiar, sujetos con hipercolesterolemia familiar heterocigótica (heFH); sujetos con hipercolesterolemia, especialmente hipercolesterolemia primaria, que son intolerantes a las estatinas o no controlados con estatinas; y sujetos en riesgo de desarrollar hipercolesterolemia que puede ser tratada preventivamente. Otras indicaciones incluyen hiperlipidemia y dislipidemia, especialmente si están asociadas con causas secundarias tales como diabetes mellitus de tipo 2, enfermedades hepáticas colestáticas (cirrosis biliar primaria), síndrome nefrótico, hipotiroidismo, obesidad; y la prevención y el tratamiento de aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares, tales como enfermedad cardíaca coronaria (ECC). Las afecciones o trastornos como se enumeran para las poblaciones o sujetos anteriores son afecciones o trastornos, para los que se desvela que el tratamiento con el anticuerpo en el presente documento es especialmente adecuado.

Sin embargo, dependiendo de la gravedad de las enfermedades y afecciones anteriormente mencionadas, el tratamiento de los sujetos con los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno desvelados en el presente documento puede estar contraindicado para ciertas enfermedades y afecciones.

El término "efecto adverso" (o efecto secundario) se refiere a un efecto perjudicial y no deseado resultante de una medicación. Un efecto adverso puede llamarse un "efecto secundario", cuando se evalúa que es secundario a un efecto principal o terapéutico. Algunos efectos adversos se producen solo cuando se empieza, aumenta o interrumpe un tratamiento. Los efectos adversos pueden producir complicaciones médicas de una enfermedad y afectar negativamente su pronóstico. Ejemplos de efectos secundarios son reacciones alérgicas, vómitos, cefaleas o mareos o cualquier otro efecto descrito en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, "tratan", "tratar" o "tratamiento" de una enfermedad o trastorno significa realizar uno o más de los siguiente: (a) reducir la gravedad y/o duración del trastorno; (b) limitar o prevenir el desarrollo de síntomas característicos del (de los) trastorno(s) que están tratándose; (c) inhibir el empeoramiento de síntomas característicos del (de los) trastorno(s) que están tratándose; (d) limitar o prevenir la reaparición del (de los) trastorno(s) en pacientes que han tenido previamente el (los) trastorno(s); y (e) limitar o prevenir la reaparición de síntomas en pacientes que fueron previamente sintomáticos para el (los) trastorno(s).

Como se usa en el presente documento, "previenen", "prevenir", "prevención" o "profilaxis" de una enfermedad, afección o trastorno significa prevenir que un trastorno, enfermedad o afección se produzca en el sujeto.

Niveles elevados de colesterol total son entendidos en el contexto de la presente divulgación para ser preferentemente niveles de colesterol total de 200 mg/dl o más, especialmente 240 mg/dl o más. Las pautas internacionales de tratamiento recomiendan reducir C-LDL a <2,0-2,6 mmol/l (<77-100 mg/dl) en pacientes con enfermedades cardiovasculares establecidas (ECV) y a <1,8-2,0 mmol/l (<70-77 mg/dl) en grupos de alto riesgo tales como aquellos con ECV más diabetes, fumador, hipertensión mal controlada, síndrome metabólico o infarto de miocardio previo. Niveles elevados de C-LDL sin así entendidos en el contexto de la presente divulgación por ser niveles de C-LDL de 77 mg/dl o más (especialmente para pacientes con una o más de las siguientes características: ECV establecidas y uno o más de [diabetes, con fumador, hipertensión mal controlada, síndrome metabólico o infarto de miocardio previo]) y 100 mg/dl o más (especialmente para pacientes con ECV establecidas), 130 mg/dl o más, o 160 mg/dl o 190 mg/dl o más. Niveles bajos de lipoproteína de alta densidad (niveles de HDL) en el contexto de la presente divulgación son entendidos por ser preferentemente inferiores a aproximadamente 40 mg/dl.

Los términos "no controlado por estatinas" o "resistente a estatinas", especialmente en el contexto de hiperlipidemia, hipercolesterolemia, se usan sinónimamente en el presente documento y se refieren a afecciones tales como

hiperlipidemia, en las que el tratamiento con una estatina (es decir, administración regular de una estatina tal como atorvastatina a un paciente) no reduce significativamente el colesterol total o C-LDL o no es suficiente para establecer niveles normolipidémicos para el paciente o para establecer un nivel lipídico (por ejemplo, colesterol total o C-LDL) que no es un factor de riesgo significativo de desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Esto significa, por ejemplo, que el tratamiento con estatinas no es suficiente para establecer niveles inferiores a 130 mg/dl en general, o inferiores a 100 mg/dl (por ejemplo, aproximadamente  $\geq 77$  mg/dl a aproximadamente 100 mg/dl), especialmente en pacientes con enfermedades cardiovasculares establecidas, o para establecer niveles de aproximadamente inferiores a 77 mg/dl (por ejemplo, aproximadamente  $\geq 70$ -77 mg/dl), especialmente en grupos de alto riesgo tales como aquellos con ECV más diabetes, fumador, hipertensión mal controlada, síndrome metabólico, o infarto de miocardio previo. En el contexto de la presente divulgación, resistencia a estatinas se refiere preferentemente a resistencia a atorvastatina.

En los siguientes pasajes se definen en más detalle diferentes aspectos de la divulgación. Cada aspecto así definido puede combinarse con cualquier otro aspecto o aspectos, a menos que se indique claramente lo contrario. En particular, cualquier característica indicada por ser preferida o ventajosa puede combinarse con cualquier otra característica o características indicadas por ser preferidas o ventajosas, a menos que se indique claramente lo contrario.

En un primer aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de tratamiento de una enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un, que comprende:

administrar una cantidad terapéutica de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana) a un sujeto en necesidad del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra en una cantidad de dosis que oscila de 5 mg a 500 mg, y

administrar una cantidad terapéutica de un inhibidor de HMG-CoA reductasa a dicho sujeto, en el que el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra preferentemente en una cantidad de dosis que oscila de 0,05 mg a 100 mg.

En el contexto de la presente solicitud, el término "una enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto" se entiende que comprende cualquier enfermedad o afección en la que la aplicación de un anticuerpo contra PCSK-9 causa un impacto.

En realizaciones preferidas del primer y los otros aspectos desvelados en el presente documento, la enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto se mejora, corrige, inhibe o previene con un antagonista de PCSK9.

En realizaciones preferidas adicionales del primer y los otros aspectos desvelados en el presente documento, la enfermedad o afección está seleccionada del grupo que consiste en: niveles elevados de colesterol total, niveles elevados de colesterol de lipoproteína de baja densidad (C-LDL), hipercolesterolemia, particularmente hipercolesterolemia no controlada por estatinas, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis, enfermedades cardiovasculares, hipercolesterolemia primaria, tal como hipercolesterolemia primaria familiar o hipercolesterolemia primaria no familiar, hipercolesterolemia (especialmente hipercolesterolemia primaria) no controlada por estatinas (particularmente no controlada por atorvastatina).

En realizaciones preferidas del primer y los otros aspectos desvelados en el presente documento, el sujeto en necesidad del mismo es un sujeto indicado para aféresis de LDL, un sujeto con mutaciones activantes de PCSK9, un sujeto con hipercolesterolemia familiar heterocigótica, un sujeto con hipercolesterolemia primaria, un sujeto con hipercolesterolemia primaria que no es controlada con estatinas, un sujeto en riesgo de desarrollar hipercolesterolemia, un sujeto con hipercolesterolemia, un sujeto con hiperlipidemia, un sujeto con dislipidemia, un sujeto con aterosclerosis o un sujeto con enfermedades cardiovasculares. Lo más preferentemente, el sujeto en necesidad del mismo es un sujeto humano.

En algunas realizaciones del primer y los otros aspectos desvelados en el presente documento, el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra tres veces por día, dos veces por día, o una vez por día. En algunas realizaciones del primer y los otros aspectos desvelados en el presente documento, el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra cada día, cada dos días, cada tercer día, cada cuarto día, cada quinto día, o cada sexto día. En algunas realizaciones del primer y los otros desvelados en el presente documento, el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra cada semana, cada dos semanas, cada tres semanas, o cada cuatro semanas. En algunas realizaciones del primer y los otros aspectos desvelados en el presente documento, el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra por la mañana, al mediodía o por la tarde. En realizaciones preferidas, el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra una vez por día, preferentemente por vía oral, preferentemente por la tarde.

Preferentemente, el inhibidor de HMG-CoA reductasa es una estatina. Más preferentemente, la estatina está seleccionada del grupo que consiste en cerivastatina, atorvastatina, simvastatina, pitavastatina, rosuvastatina, fluvastatina, lovastatina y pravastatina.

En realizaciones más preferidas del primer y los otros aspectos desvelados en el presente documento, la estatina es

- cerivastatina administrada en una dosis diaria de entre 0,05 mg y 2 mg, preferentemente en una dosis diaria de 0,2 mg, 0,4 mg, o 0,8 mg;
- 5 - atorvastatina administrada en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg;
- simvastatina administrada en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 5 mg, 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg;
- pitavastatina administrada en una dosis diaria de entre 0,2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 1 mg, 2 mg, 5 mg, 10 mg, o 20 mg;
- 10 - rosuvastatina administrada en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 5 mg, 10 mg, 20 mg, o 40 mg;
- fluvastatina administrada en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 20 mg, 40 mg, u 80 mg;
- 15 - lovastatina administrada en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg; o
- pravastatina administrada en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg.

En realizaciones preferidas del primer y los otros aspectos desvelados en el presente documento, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al sujeto cada dos semanas, cada cuatro semanas o una vez al mes. Se prefiere la administración cada cuatro semanas o administración una vez al mes (es decir, una vez por mes de calendario, por ejemplo, cada primer, segundo, etc. día del mes o cada primer, segundo, tercer lunes, martes, etc., cada mes, a diferencia de la administración cada cuatro semanas) en vista del cumplimiento del paciente. Se prefiere la administración cada dos semanas en vista de una variación muy baja de los niveles de colesterol en sangre. Otros programas de tiempo adecuados para administración del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo incluyen sin limitación una administración una vez por día, cada dos días, cada tercer día, cada cuarto día, cada quinto día, cada sexto día, cada semana, cada tres semanas, cada quinta semana, cada sexta semana, cada octava semana, cada décima semana, y cada duodécima semana.

En realizaciones preferidas del primer y los otros aspectos desvelados en el presente documento, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra en una cantidad de dosis que oscila por ejemplo, de aproximadamente 40 mg a aproximadamente 500 mg, de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 500 mg, de aproximadamente 50 mg a 300 mg o de aproximadamente 100 mg a 200 mg. En realizaciones más preferidas, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra en una cantidad de dosis de aproximadamente 50 mg, de aproximadamente 100 mg, de aproximadamente 150 mg, de aproximadamente 200 mg, de aproximadamente 250 mg, de aproximadamente 300 mg, de aproximadamente 350 mg, de aproximadamente 400 mg, de aproximadamente 450 mg o de aproximadamente 500 mg. Dosis de aproximadamente 50 a aproximadamente 200 mg, por ejemplo, de aproximadamente 50 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg o aproximadamente 200 mg son especialmente adecuadas para una pauta posológica bisemanal (es decir, la administración cada dos semanas), dosis de aproximadamente 150 mg a aproximadamente 400 mg, por ejemplo, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 300 mg aproximadamente 350 mg o aproximadamente 400 mg son especialmente adecuadas para una pauta de administración con intervalos más largos, por ejemplo, una administración cada tercera o cada cuatro semanas o una vez al mes.

Los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que pueden usarse para poner en práctica el primer y los otros aspectos desvelados en el presente documento se describen en la sección "*Anticuerpos preferidos*".

En un segundo aspecto, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana) para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto,

en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración en una cantidad de dosis que oscila de 5 mg a 500 mg,

en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es además para administración en combinación con un inhibidor de HMG-CoA reductasa a una cantidad de dosis que oscila de 0,05 mg a 100 mg.

En realizaciones preferidas del segundo y los otros aspectos desvelados en el presente documento, la enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto se mejora, corrige, inhibe o previene con un antagonista de PCSK9.

5 En realizaciones preferidas adicionales del segundo y los otros aspectos desvelados en el presente documento, la enfermedad o afección está seleccionada del grupo que consiste en: niveles elevados de colesterol de lipoproteína de baja densidad (C-LDL), hipercolesterolemia, particularmente hipercolesterolemia no controlada por estatinas, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares, particularmente hipercolesterolemia primaria tal como hipercolesterolemia primaria familiar o hipercolesterolemia primaria no familiar.

10 En realizaciones preferidas del segundo y los otros aspectos desvelados en el presente documento, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración a un sujeto indicado para aféresis de LDL, un sujeto con mutaciones activantes de PCSK9, un sujeto con hipercolesterolemia familiar heterocigótica, un sujeto con hipercolesterolemia primaria, un sujeto con hipercolesterolemia primaria que no es controlada con estatinas, un sujeto en riesgo de desarrollar hipercolesterolemia, un sujeto con hipercolesterolemia, un sujeto con hiperlipidemia, un sujeto con dislipidemia, un sujeto con aterosclerosis o un sujeto con enfermedades cardiovasculares. Lo más  
15 preferentemente, el sujeto es un sujeto humano.

En algunas realizaciones del segundo y los otros aspectos desvelados en el presente documento, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración en combinación con un inhibidor de HMG-CoA reductasa, que va a administrarse tres veces por día, dos veces por día, o una vez por día. En algunas realizaciones del segundo y los otros aspectos desvelados en el presente documento, el inhibidor de HMG-CoA reductasa va a administrarse cada día, cada dos días, cada tercer día, cada cuarto día, cada quinto día, o cada sexto día. En algunas realizaciones del segundo y los otros aspectos desvelados en el presente documento, el inhibidor de HMG-CoA reductasa va a administrarse cada semana, cada dos semanas, cada tres semanas, o cada cuatro semanas. En algunas realizaciones del segundo y los otros aspectos desvelados en el presente documento, el inhibidor de HMG-CoA reductasa va a administrarse por la mañana, al mediodía o por la tarde. En realizaciones preferidas, el  
25 inhibidor de HMG-CoA reductasa va a administrarse una vez por día, preferentemente por vía oral, preferentemente por la tarde.

En realizaciones preferidas del segundo y los otros aspectos desvelados en el presente documento, el inhibidor de HMG-CoA reductasa es una estatina. Más preferentemente, la estatina está seleccionada del grupo que consiste en cerivastatina, atorvastatina, simvastatina, pitavastatina, rosuvastatina, fluvastatina, lovastatina y pravastatina.

30 En realizaciones más preferidas del segundo y los otros aspectos desvelados en el presente documento, la estatina es

- cerivastatina que va a administrarse en una dosis diaria de entre 0,05 mg y 2 mg, preferentemente en una dosis diaria de 0,2 mg, 0,4 mg, o 0,8 mg;
- atorvastatina que va a administrarse en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis  
35 diaria de 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg;
- simvastatina que va a administrarse en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 5 mg, 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg;
- pitavastatina que va a administrarse en una dosis diaria de entre 0,2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 1 mg, 2 mg, 5 mg, 10 mg, o 20 mg;
- rosuvastatina que va a administrarse en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis  
40 diaria de 5 mg, 10 mg, 20 mg, o 40 mg;
- fluvastatina que va a administrarse en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 20 mg, 40 mg, u 80 mg;
- lovastatina que va a administrarse en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis  
45 diaria de 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg; o
- pravastatina que va a administrarse en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg.

En realizaciones preferidas del segundo y los otros aspectos desvelados en el presente documento, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración al sujeto cada dos semanas, cada cuatro semanas o una vez al mes. Se prefiere la administración cada cuatro semanas o administración una vez al mes en vista del cumplimiento del paciente. Se prefiere la administración cada dos semanas en vista de una variación muy baja de los niveles de colesterol en sangre. Otros programas de tiempo adecuados para la administración del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo incluyen, sin limitación, una administración una vez por día, cada dos  
50

días, cada tercer día, cada cuarto día, cada quinto día, cada sexto día, cada semana, cada tres semanas, cada quinta semana, cada sexta semana, cada octava semana, cada décima semana, y cada duodécima semana.

En realizaciones preferidas del segundo y los otros aspectos desvelados en el presente documento, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración en una cantidad de dosis que oscila de aproximadamente 40 mg a aproximadamente 500 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 500 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 400 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 300 mg, o de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 300 mg o de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 200 mg. En realizaciones más preferidas, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración en una cantidad de dosis de aproximadamente 50 mg, de aproximadamente 100 mg, de aproximadamente 150 mg, de aproximadamente 200 mg, de aproximadamente 250 mg, de aproximadamente 300 mg, de aproximadamente 350 o de aproximadamente 400 mg.

En realizaciones preferidas del segundo y los otros aspectos desvelados en el presente documento, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración en una cantidad de dosis (es decir, una pauta posológica) que oscila de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 200 mg cada dos semanas (E2W), preferentemente aproximadamente 50 mg E2W, aproximadamente 100 mg E2W, aproximadamente 150 mg E2W, aproximadamente 200 mg E2W, aproximadamente 250 mg E2W o aproximadamente 300 mg E2W, siendo incluso más preferida aproximadamente 50 mg E2W, aproximadamente 100 mg E2W, aproximadamente 150 mg E2W, aproximadamente 200 mg E2W. Según una realización especialmente ventajosa del segundo y los otros aspectos desvelados en el presente documento, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración en una cantidad de dosis (es decir, una pauta posológica) E2W de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 200 mg, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 180 mg, de aproximadamente 130 mg a aproximadamente 170 mg, de aproximadamente 140 a aproximadamente 160 mg o aproximadamente 90, aproximadamente 100, aproximadamente 110, aproximadamente 120, aproximadamente 130, aproximadamente 140, aproximadamente 145, aproximadamente 150, aproximadamente 155, aproximadamente 160, aproximadamente 170, aproximadamente 180, aproximadamente 190 o aproximadamente 200 mg E2W, perteneciendo las pautas posológicas de aproximadamente 145 mg a aproximadamente 155 mg E2W y particularmente aproximadamente 150 mg E2W a las realizaciones particularmente preferidas.

En otras realizaciones preferidas del segundo y los otros aspectos desvelados en el presente documento, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración en una cantidad de dosis que oscila de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 400 mg cada cuatro semanas (E4W), preferentemente aproximadamente 100 mg E4W, aproximadamente 150 mg E4W, aproximadamente 200 mg E4W, aproximadamente 250 mg E4W, aproximadamente 300 mg E4W, aproximadamente 350 mg E4W o aproximadamente 400 mg E4W, perteneciendo cantidades de dosis de aproximadamente 190 a aproximadamente 310 E4W, de aproximadamente 200 a aproximadamente 300 mg E4W, aproximadamente 190 a aproximadamente 210 E4W, aproximadamente 195 a aproximadamente 205 E4W, aproximadamente 290 a aproximadamente 310 E4W, aproximadamente 295 a aproximadamente 305 E4W, aproximadamente 200 mg E4W o aproximadamente 300 mg E4W a las realizaciones particularmente preferidas. Estas cantidades de dosis indicadas para administración E4W también son adecuadas para administración una vez al mes.

Anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que pueden usarse para poner en práctica el segundo y otros aspectos desvelados en el presente documento se describen en la sección "*Anticuerpos preferidos*".

En un tercer aspecto, la presente divulgación se refiere a un artículo de fabricación que comprende: (a) un material de envasado; (b) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h; y (c) una etiqueta o prospecto contenido dentro del material de envasado que indica que los pacientes que reciben tratamiento con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno pueden tratarse para una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares.

En un cuarto aspecto, la presente divulgación se refiere a un artículo de fabricación que comprende: (a) un material de envasado; (b) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h; y (c) una etiqueta o prospecto contenido dentro del material de envasado que indica el tratamiento de pacientes con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo junto con la administración de un inhibidor de HMG-CoA tal como una estatina.

En un quinto aspecto, la presente divulgación se refiere a un artículo de fabricación que comprende (a) un material de envasado; (b) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h; y (c) una etiqueta o prospecto que indica que el tratamiento de pacientes con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo junto con un inhibidor de HMG-CoA tal como una estatina está contraindicado para pacientes que pertenecen a uno o más de los siguientes grupos: (i) fumadores; (ii) personas de 70 años o mayores; (iii) personas que padecen hipertensión; (iv) mujeres que están embarazadas; (v) mujeres que están intentando quedarse embarazadas; (vi) mujeres que están dando de mamar; (vii) personas que tienen o han tenido alguna vez una enfermedad que afecta al hígado; (viii) personas que tuvieron algún análisis de sangre anormal inexplicado para la función hepática; (ix) personas que beben excesivas cantidades de alcohol; (x) personas que tienen problemas de

riñón; (xi) personas que padecen hipotiroidismo; (xii) personas que padecen trastornos musculares; (xiii) personas que han tenido problemas musculares previos durante el tratamiento con medicina hipolipemiente; (xiv) personas que tienen graves problemas con su respiración; (xv) personas que toman una o más de las siguientes medicinas: medicinas que alteran la forma en la que trabajan los sistemas inmunitarios (por ejemplo, ciclosporina o antihistamínicos), antibióticos o medicinas antifúngicas (por ejemplo, eritromicina, claritromicina, ketoconazol, itraconazol, rifampicina, ácido fusídico), medicinas que regulan los niveles de lípidos (por ejemplo, gemfibrozilo, colestipol), bloqueantes de los canales de calcio (por ejemplo, verapamilo, diltiazem), medicinas que regulan el ritmo cardíaco (digoxina, amiodarona), inhibidores de la proteasa usados en el tratamiento de VIH (por ejemplo, nelfinavir), warfarina, anticonceptivos orales, antiácidos o hierba de san Juan; o (xvi) personas que beben más de 0,1 l de zumo de pomelo al día o que comen más de medio pomelo por día; (xvii) personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) superior a 40; (xviii) personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) inferior a 18; (xix) personas que padecen diabetes de tipo 1 o diabetes de tipo 2; (xx) personas positivas para hepatitis B o hepatitis C; (xxi) personas que tienen una sensibilidad conocida a fármacos terapéuticos de anticuerpos monoclonales; (xxii) personas que tienen una concentración de neutrófilos inferior a 1500/mm<sup>3</sup>; (xxiii) personas que tienen una concentración de plaquetas inferior a 100000/mm<sup>3</sup>; (xxiv) varones que tienen un nivel de creatinina en suero mayor de 1,5 x ULN (límite superior de la normalidad); (xxv) mujeres que tienen un nivel de creatinina en suero mayor de 1,4 x ULN (límite superior de la normalidad); (xxvi) personas que tienen un nivel de alanina transaminasa (ALT) o nivel de aspartato transaminasa (AST) mayor de 2 x ULN; o (xxvii) personas que tienen un nivel de CPK mayor de 3 x ULN.

En realizaciones preferidas del tercer, cuarto y quinto aspecto, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno como se especifica más adelante en la sección "*Anticuerpos preferidos*".

La etiqueta o prospecto según los diferentes aspectos y realizaciones desvelados en el presente documento, particularmente respecto a los diferentes artículos de fabricación desvelados en el presente documento, puede ser cualquier tipo de soporte de datos adecuado para ser dispuesto dentro del envase o recipiente o sobre el exterior del envase o recipiente. Preferentemente, los soportes de datos (es decir, etiqueta o, chip, código de barras o panfleto o etiqueta que comprende un código de barras) comprende información tal como

(i) composición, formulación, concentración y cantidad total, identidad del (de los ) principio(s) activo(s) contenido(s) en el artículo de fabricación, es decir, del anticuerpo o fragmentos de antígeno, inhibidor de HMG-CoA reductasa, composición farmacéutica, forma de dosificación unitaria o formulación desvelada en el presente documento

(ii) número y composición de la forma de dosificación unitaria contenida en el artículo de fabricación

(iii) indicaciones, contraindicaciones del anticuerpo o fragmentos de antígeno, composición farmacéutica, forma de dosificación unitaria o formulación desvelada en el presente documento

(iv) (ii) sujetos/pacientes o poblaciones de sujetos/pacientes indicadas o contraindicadas para el tratamiento con el anticuerpo o fragmentos de antígeno, composición farmacéutica, forma de dosificación unitaria o formulación desvelada en el presente documento

(v) instrucciones para su uso, pautas posológicas y/o pautas de administración

(vi) información de calidad tal como información sobre el número de partida/lote del anticuerpo o fragmentos de antígeno, composición farmacéutica, forma de dosificación unitaria o formulación desvelada en el presente documento, el sitio de fabricación o ensamblaje o la caducidad o la fecha límite de venta,

(vii) información referente al correcto almacenamiento o manipulación del artículo de fabricación, del dispositivo para administración, o del anticuerpo o fragmentos de antígeno, composición farmacéutica, forma de dosificación unitaria o formulación desvelada en el presente documento,

(iv) información referente a la composición del (de los) tampón (tampones), diluyente(s), reactivo(s), excipientes, vehículos, formulaciones del anticuerpo o fragmentos de antígeno, composición farmacéutica, forma de dosificación unitaria o formulación desvelada en el presente documento,

(vi) una advertencia referente a posibles consecuencias cuando se administra una dosificación inadecuada o pautas de administración y/o uso en indicaciones contraindicadas de poblaciones de pacientes.

En realizaciones preferidas del tercer, cuarto y quinto aspecto, la etiqueta o prospecto contiene referencia a un método de tratamiento o uso médico según el primer o segundo aspecto y las realizaciones del primer o segundo aspecto como se describe en el presente documento.

Una realización preferida adicional de la presente divulgación combina las características del tercer aspecto y el cuarto aspecto como se describe en el presente documento.

Una realización preferida adicional de la presente divulgación combina las características del tercer aspecto y el quinto aspecto como se describe en el presente documento.

Una realización preferida adicional de la presente divulgación combina las características del cuarto aspecto y el quinto aspecto como se describe en el presente documento.

- 5 Una realización preferida adicional de la presente divulgación combina las características del tercer aspecto, el cuarto aspecto y el quinto aspecto como se describe en el presente documento.

En un sexto aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de prueba de la eficacia de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h para el tratamiento de una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares o cualquiera de las otras afecciones o enfermedades según el primer o segundo aspecto desvelado en el presente documento, comprendiendo dicho método:

tratar una población de pacientes seleccionada con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, en el que cada paciente en dicha población tiene un nivel de colesterol de (C-LDL) superior a 100 mg/dl; y

- 15 determinar la eficacia de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo determinando el nivel de C-LDL en la población de pacientes antes y después de la administración de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, en el que una reducción del nivel de C-LDL de al menos el 25 % con respecto a un nivel predosis en al menos el 75 % de la población de pacientes indica que dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es eficaz para el tratamiento de dicha enfermedad o afección en dicha población de pacientes.

En un séptimo aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de prueba de la eficacia de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h para el tratamiento de una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares o cualquiera de las otras afecciones o enfermedades según el primer o segundo aspecto desvelado en el presente documento, comprendiendo dicho método:

determinar la eficacia de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se ha usado para el tratamiento de una población de pacientes seleccionada con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, en el que cada paciente en dicha población tiene un nivel de colesterol de (C-LD)L superior a 100 mg/dl determinando el nivel de C-LDL en la población de pacientes antes y después de la administración de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, en el que una reducción del nivel de C-LDL de al menos el 25 % con respecto a un nivel predosis en al menos el 75 % de la población de pacientes indica que dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es eficaz para el tratamiento de dicha enfermedad o afección en dicha población de pacientes.

- 35 En realizaciones preferidas del sexto y séptimo aspecto, cada paciente en dicha población ha recibido un tratamiento hipolipemiente por administración de un inhibidor de HMG-CoA, tal como una estatina durante al menos 6 semanas antes del tratamiento con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo.

En realizaciones preferidas del sexto y séptimo aspecto, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno como se especifica más adelante en la sección "*Anticuerpos preferidos*".

- 40 En realizaciones preferidas del sexto y séptimo aspecto, la población de pacientes seleccionada se trata con un método de tratamiento según el primer aspecto y las realizaciones del primer o segundo aspecto como se describe en el presente documento.

En un octavo aspecto, la presente divulgación se refiere a un envase que comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h y una etiqueta, comprendiendo dicha etiqueta una declaración impresa que informa al paciente de que el tratamiento del anticuerpo junto con un inhibidor de HMG-CoA reductasa tal como una estatina se indica en una o más de las indicaciones seleccionadas del grupo que consiste en hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares o cualquiera de las otras afecciones o enfermedades según el primer o segundo aspecto desvelado en el presente documento. Anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que pueden usarse para poner en práctica el octavo aspecto de la presente divulgación se describen en la sección "*Anticuerpos preferidos*".

- 55 En un noveno aspecto, la presente divulgación se refiere a un envase que comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h y una etiqueta, comprendiendo dicha etiqueta una declaración impresa que informa al paciente de que el tratamiento del anticuerpo junto con una estatina está contraindicado para pacientes que pertenecen a uno o más de los siguientes grupos: (i) fumadores; (ii) personas de 70 años o mayores; (iii) personas que padecen hipertensión; (iv) mujeres que están embarazadas; (v) mujeres que están intentando quedarse embarazadas; (vi) mujeres que están dando de mamar; (vii) personas que tienen o han



tenido alguna vez una enfermedad que afecta al hígado; (viii) personas que tuvieron algún análisis de sangre anormal inexplicado para la función hepática; (ix) personas que beben excesivas cantidades de alcohol; (x) personas que tienen problemas de riñón; (xi) personas que padecen hipotiroidismo; (xii) personas que padecen trastornos musculares; (xiii) personas que han tenido problemas musculares previos durante el tratamiento con medicina hipolipemiente; (xiv) personas que tienen graves problemas con su respiración; (xv) personas que toman una o más de las siguientes medicinas: medicinas que alteran la forma en la que trabajan los sistemas inmunitarios (por ejemplo, ciclosporina o antihistamínicos), antibióticos o medicinas antifúngicas (por ejemplo, eritromicina, claritromicina, ketoconazol, itraconazol, rifampicina, ácido fusídico), medicinas que regulan los niveles de lípidos (por ejemplo, gemfibrozilo, colestipol), bloqueantes de los canales de calcio (por ejemplo, verapamilo, diltiazem), medicinas que regulan el ritmo cardíaco (digoxina, amiodarona), inhibidores de la proteasa usados en el tratamiento de VIH (por ejemplo, nelfinavir), warfarina, anticonceptivos orales, antiácidos o hierba de san Juan; o (xvi) personas que beben más de 0,1 l de zumo de pomelo al día o que comen más de medio pomelo por día; (xvii) personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) superior a 40; (xviii) personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) inferior a 18; (xix) personas que padecen diabetes de tipo 1 o diabetes de tipo 2; (xx) personas positivas para hepatitis B o hepatitis C; (xxi) personas que tienen una sensibilidad conocida a fármacos terapéuticos de anticuerpos monoclonales; (xxii) personas que tienen una concentración de neutrófilos inferior a 1500/mm<sup>3</sup>; (xxiii) personas que tienen una concentración de plaquetas inferior a 100000/mm<sup>3</sup>; (xxiv) varones que tiene un nivel de creatinina en suero mayor de 1,5 x ULN (límite superior de la normalidad); (xxv) mujeres que tienen un nivel de creatinina en suero mayor de 1,4 x ULN (límite superior de la normalidad); (xxvi) personas que tienen un nivel de alanina transaminasa (ALT) o nivel de aspartato transaminasa (AST) mayor de 2 x ULN; o (xxvii) personas que tienen un nivel de CPK mayor de 3 x ULN. Anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que pueden usarse para poner en práctica el noveno aspecto de la presente divulgación se describen en la sección "Anticuerpos preferidos".

Una realización preferida adicional de la presente divulgación combina las características del octavo aspecto y el noveno aspecto como se describe en el presente documento.

En un décimo aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de regulación del nivel de LDL en la sangre que comprende:

administrar una cantidad terapéutica de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana) a un sujeto en necesidad del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra en una cantidad de dosis que oscila de 5 mg a 500 mg, y

administrar una cantidad terapéutica de un inhibidor de HMG-CoA reductasa a dicho sujeto, en el que el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra preferentemente en una cantidad de dosis que oscila de 0,05 mg a 100 mg.

En un décimo primer aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de prevención de efectos de un nivel de LDL (persistentemente) elevado en la sangre que comprende:

administrar una cantidad terapéutica de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana) a un sujeto en necesidad del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra en una cantidad de dosis que oscila de 5 mg a 500 mg, y

administrar una cantidad terapéutica de un inhibidor de HMG-CoA reductasa a dicho sujeto, en el que el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra preferentemente en una cantidad de dosis que oscila de 0,05 mg a 100 mg.

En realizaciones preferidas del décimo y décimo primer aspecto, la enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto se mejora, corrige, inhibe o previene con un antagonista de PCSK9. En realizaciones preferidas adicionales del décimo y décimo primer aspecto, la enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto está seleccionada del grupo que consiste en: niveles elevados de C-LDL, hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares o cualquiera de las otras afecciones o enfermedades según el primer o segundo aspecto desvelado en el presente documento.

En realizaciones preferidas del décimo y décimo primer aspecto, el sujeto en necesidad del mismo es un sujeto indicado para aféresis de LDL, un sujeto con mutaciones activantes de PCSK9, un sujeto con hipercolesterolemia familiar heterocigótica, un sujeto con hipercolesterolemia primaria que no es controlada con estatinas, un sujeto en riesgo de desarrollar hipercolesterolemia, un sujeto con hipercolesterolemia, un sujeto con hiperlipidemia, un sujeto con dislipidemia, un sujeto con aterosclerosis o un sujeto con enfermedades cardiovasculares o cualquiera de los sujetos como se describe en el primer o segundo aspecto desvelado en el presente documento. Lo más preferentemente, el sujeto en necesidad del mismo es un sujeto humano.

En algunas realizaciones del décimo y décimo primer aspecto, el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra tres veces por día, dos veces por día, o una vez por día. En algunas realizaciones, el inhibidor de HMG-CoA reductasa

se administra cada día, cada dos días, cada tercer día, cada cuarto día, cada quinto día, o cada sexto día. En algunas realizaciones, el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra cada semana, cada dos semanas, cada tres semanas, cada cuatro semanas, o cada mes. En algunas realizaciones, el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra por la mañana, al mediodía o por la tarde. En realizaciones preferidas, el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra una vez por día, preferentemente por vía oral, preferentemente por la tarde. Pautas de administración adecuadas adicionales se describen en el primer o segundo aspecto.

Preferentemente, el inhibidor de HMG-CoA reductasa es una estatina. Más preferentemente, la estatina está seleccionada del grupo que consiste en cerivastatina, atorvastatina, simvastatina, pitavastatina, rosuvastatina, fluvastatina, lovastatina y pravastatina.

10 En realizaciones más preferidas del décimo y décimo primer aspecto, la estatina es

- cerivastatina administrada en una dosis diaria de entre 0,05 mg y 2 mg, preferentemente en una dosis diaria de 0,2 mg, 0,4 mg, o 0,8 mg;
- atorvastatina administrada en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg;
- 15 - simvastatina administrada en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 5 mg, 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg;
- pitavastatina administrada en una dosis diaria de entre 0,2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 1 mg, 2 mg, 5 mg, 10 mg, o 20 mg;
- rosuvastatina administrada en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 5 mg, 10 mg, 20 mg, o 40 mg;
- 20 - fluvastatina administrada en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 20 mg, 40 mg, u 80 mg;
- lovastatina administrada en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg; o
- 25 - pravastatina administrada en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg.

En realizaciones preferidas del décimo y décimo primer aspecto, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al sujeto cada dos semanas, cada cuatro semanas o una vez al mes. Se prefiere la administración cada cuatro semanas o cada mes en vista del cumplimiento del paciente. Se prefiere la administración cada dos semanas en vista de una variación muy baja de los niveles de colesterol en sangre. Otros programas de tiempo adecuados para administración del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo incluyen, sin limitación, una administración una vez por día, cada dos días, cada tercer día, cada cuarto día, cada quinto día, cada sexto día, cada semana, cada tres semanas, cada quinta semana, cada sexta semana, cada octava semana, cada décima semana, y cada duodécima semana.

35 En realizaciones preferidas del décimo y décimo primer aspecto, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra en una cantidad de dosis que oscila de 50 mg a 300 mg, por ejemplo, de 100 mg a 200 mg. En realizaciones más preferidas, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra en una cantidad de dosis de aproximadamente 50 mg, de aproximadamente 100 mg, de aproximadamente 150 mg, de aproximadamente 200 mg, o de aproximadamente 300 mg. Pautas posológicas adecuadas y preferidas adicionales se describen en el primer o segundo aspecto.

Anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que pueden usarse para poner en práctica el décimo y décimo primer aspecto de la presente divulgación se describen en la sección "Anticuerpos preferidos".

En un décimo segundo aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de determinación de si un compuesto farmacéutico es utilizable para mejorar, corregir, inhibir o prevenir una enfermedad o afección en la que la actividad o expresión de PCSK9 tiene un impacto que comprende:

- (a) administrar a un sujeto un compuesto que se une específicamente a PCSK9, preferentemente un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9, y
- (b) determinar qué fracción de PCSK9 en la sangre está unida al compuesto de (a).

Normalmente, los compuestos que se unen específicamente del 10 % al 100 % (preferentemente del 20 % al 100 %, más preferentemente del 30 % al 100 %, más preferentemente del 40 % al 100 %, más preferentemente del 50 % al 100 %) de PCSK9 presente en la sangre cuando se usa en cantidades estequiométricas, serán utilizables para

mejorar, corregir, inhibir o prevenir una enfermedad o afección en la que la actividad o expresión de PCSK9 tiene un impacto.

Preferentemente, la enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 tiene un impacto está seleccionada del grupo que consiste en: niveles elevados de C-LDL, hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares o cualquiera de las otras enfermedades descritas en el primer o segundo aspecto.

Anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que pueden usarse para poner en práctica el décimo segundo aspecto de la presente divulgación se describen en la sección "*Anticuerpos preferidos*".

En un décimo tercer aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de tratamiento de una enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto que comprende

administrar una cantidad terapéutica de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana) a un sujeto en necesidad del mismo,

en el que el sujeto en necesidad del mismo se clasifica en uno o más de los siguientes grupos de sujetos: (i) sujetos que tienen un nivel de colesterol de (C-LDL) en suero de al menos 100 mg/dl, preferentemente al menos 130 mg/dl, más preferentemente al menos 160 mg/dl, incluso más preferentemente al menos 200 mg/dl; (ii) sujetos que tienen un nivel de C-HDL en suero inferior a 40 mg/dl; (iii) sujetos que tienen un nivel de colesterol en suero de al menos 200 mg/dl, preferentemente al menos 240 mg/dl; (iv) sujetos que tienen un nivel de triacilglicerolos en suero de al menos 150 mg/dl, por ejemplo, al menos 200 mg/dl o al menos 500 mg/dl, en el que dicho nivel de triacilglicerolos se determina después de ayunar durante al menos 8 horas; (v) sujetos que tienen al menos 35 años, por ejemplo, al menos 40 años, al menos 45 años, al menos 50 años, al menos 55 años, al menos 60 años, al menos 65 años, o al menos 75 años; (vi) sujetos más jóvenes de 75 años, por ejemplo, más jóvenes de 70 años, más jóvenes de 65 años, más jóvenes de 60 años, más jóvenes de 55 años, más jóvenes de 50 años, más jóvenes de 45 años, o más jóvenes de 40 años; (vii) sujetos que tienen un IMC de 25 o más (por ejemplo, 26 o más, 27 o más, 28 o más, 29 o más, 30 o más, 31 o más, 32 o más, 33 o más, 34 o más, 35 o más, 36 o más, 37 o más, 38 o más, o 39 o más); (viii) sujetos masculinos; (ix) sujetos femeninos; (x) sujetos en los que la administración de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo conduce a una reducción en el nivel de C-LDL en suero de al menos 30 mg/dl, preferentemente de al menos 40 mg/dl, más preferentemente de al menos 50 mg/dl, más preferentemente de al menos 60 mg/dl, más preferentemente de al menos 70 mg/dl, con respecto al nivel predosis; o (xi) sujetos en los que la administración de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo conduce a una reducción en el nivel de C-LDL en suero de al menos el 20 %, preferentemente de al menos el 30 %, más preferentemente de al menos el 40 %, más preferentemente de al menos el 50 %, más preferentemente de al menos el 60 %, con respecto al nivel predosis.

En un décimo cuarto aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de tratamiento de una enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto que comprende

administrar una cantidad terapéutica de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana) a un sujeto en necesidad del mismo,

en el que el sujeto en necesidad del mismo no se clasifica en uno o más de los siguientes grupos de sujetos: (i) fumadores; (ii) personas de 70 años o mayores; (iii) personas que padecen hipertensión; (iv) mujeres que están embarazadas; (v) mujeres que están intentando quedarse embarazadas; (vi) mujeres que están dando de mamar; (vii) personas que tienen o han tenido alguna vez una enfermedad que afecta al hígado; (viii) personas que tuvieron algún análisis de sangre anormal inexplicado para la función hepática; (ix) personas que beben excesivas cantidades de alcohol; (x) personas que tienen problemas de riñón; (xi) personas que padecen hipotiroidismo; (xii) personas que padecen trastornos musculares; (xiii) personas que han tenido problemas musculares previos durante el tratamiento con medicina hipolipemiente; (xiv) personas que tienen graves problemas con su respiración; (xv) personas que toman una o más de las siguientes medicinas: medicinas que alteran la forma en la que trabajan los sistemas inmunitarios (por ejemplo, ciclosporina o antihistamínicos), antibióticos o medicinas antifúngicas (por ejemplo, eritromicina, claritromicina, ketoconazol, itraconazol, rifampicina, ácido fusídico), medicinas que regulan los niveles de lípidos (por ejemplo, gemfibrozilo, colestipol), bloqueantes de los canales de calcio (por ejemplo, verapamilo, diltiazem), medicinas que regulan el ritmo cardíaco (digoxina, amiodarona), inhibidores de la proteasa usados en el tratamiento de VIH (por ejemplo, nelfinavir), warfarina, anticonceptivos orales, antiácidos o hierba de san Juan; o (xvi) personas que beben más de 0,1 l de zumo de pomelo al día o que comen más de medio pomelo por día; (xvii) personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) superior a 40; (xviii) personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) inferior a 18; (xix) personas que padecen diabetes de tipo 1 o diabetes de tipo 2; (xx) personas positivas para hepatitis B o hepatitis C; (xxi) personas que tienen una sensibilidad conocida a fármacos terapéuticos de anticuerpos monoclonales; (xxii) personas que tienen una concentración de neutrófilos inferior a 1500/mm<sup>3</sup>; (xxiii) personas que tienen una concentración de plaquetas inferior a 100000/mm<sup>3</sup>; (xxiv) varones que tienen un nivel de creatinina en suero mayor de 1,5 x ULN (límite superior de la normalidad); (xxv) mujeres que tienen un nivel de

creatinina en suero mayor de 1,4 x ULN (límite superior de la normalidad); (xxvi) personas que tienen un nivel de alanina transaminasa (ALT) o nivel de aspartato transaminasa (AST) mayor de 2 x ULN; o (xxvii) personas que tienen un nivel de CPK mayor de 3 x ULN.

5 En realizaciones preferidas del décimo tercer y el décimo cuarto aspecto, la enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto se mejora, corrige, inhibe o previene con un antagonista de PCSK9.

10 En realizaciones preferidas del décimo tercer y el décimo cuarto aspecto, la enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto está seleccionada del grupo que consiste en: niveles elevados de C-LDL, hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares o cualquiera de las otras enfermedades o afecciones descritas en los otros aspectos desvelados en el presente documento, tal como el primer o segundo aspecto.

15 En realizaciones preferidas del décimo tercer y el décimo cuarto aspecto, el sujeto en necesidad del mismo es un sujeto indicado para aféresis de LDL, un sujeto con mutaciones activantes de PCSK9, un sujeto con hipercolesterolemia familiar heterocigótica, un sujeto con hipercolesterolemia primaria, por ejemplo, un sujeto con hipercolesterolemia familiar primaria o no familiar primaria, un sujeto con hipercolesterolemia tal como hipercolesterolemia primaria que no es controlada con estatinas, un sujeto en riesgo de desarrollar hipercolesterolemia, un sujeto con hipercolesterolemia, un sujeto con hiperlipidemia, un sujeto con dislipidemia, un sujeto con aterosclerosis o un sujeto con enfermedades cardiovasculares, o cualquiera de los otros sujetos descritos en el primer o segundo aspectos. Lo más preferentemente, el sujeto en necesidad del mismo es un sujeto humano.

20 Sujetos preferidos o adecuados adicionales se describen en los otros aspectos desvelados en el presente documento.

Anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que pueden usarse para poner en práctica el décimo tercer y décimo cuarto aspecto y los otros aspectos de la presente divulgación se describen en la sección *"Anticuerpos preferidos"*.

25 En realizaciones preferidas del décimo tercer y el décimo cuarto aspecto, el método comprende además: administrar una cantidad terapéutica de un inhibidor de HMG-CoA reductasa al sujeto en una dosificación de entre 0,05 mg y 100 mg. En algunas realizaciones, el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra tres veces por día, dos veces por día, o una vez por día. En algunas realizaciones, el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra cada día, cada dos días, cada tercer día, cada cuarto día, cada quinto día, o cada sexto día. En algunas realizaciones, el

30 inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra cada semana, cada dos semanas, cada tres semanas, o cada cuatro semanas. En algunas realizaciones, el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra por la mañana, al mediodía o por la tarde. En realizaciones preferidas, el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra una vez por día, preferentemente por vía oral, preferentemente por la tarde. Preferentemente, el inhibidor de HMG-CoA reductasa es una estatina. Más preferentemente, la estatina está seleccionada del grupo que consiste en cerivastatina, atorvastatina, simvastatina, pitavastatina, rosuvastatina, fluvastatina, lovastatina y pravastatina. En realizaciones

35 preferidas adicionales del décimo tercer y el décimo cuarto aspecto, el método comprende administrar una cantidad terapéutica de una estatina al sujeto, en el que la estatina es:

- cerivastatina administrada en una dosis diaria de entre 0,05 mg y 2 mg, preferentemente en una dosis diaria de 0,2 mg, 0,4 mg, o 0,8 mg;
- 40 - atorvastatina administrada en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg;
- simvastatina administrada en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 5 mg, 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg;
- 45 - pitavastatina administrada en una dosis diaria de entre 0,2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 1 mg, 2 mg, 5 mg, 10 mg, o 20 mg;
- rosuvastatina administrada en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 5 mg, 10 mg, 20 mg, o 40 mg;
- fluvastatina administrada en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 20 mg, 40 mg, u 80 mg;
- 50 - lovastatina administrada en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg; o
- pravastatina administrada en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg.

Una realización preferida adicional de la presente divulgación combina las características del décimo tercer aspecto y el décimo cuarto aspecto como se describe en el presente documento.

En un décimo quinto aspecto, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana), en el que el anticuerpo se caracteriza por una o más de las siguientes características tras la administración a un sujeto, preferentemente un mamífero humano o no humano:

13. reducción de los niveles de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el -25 % a aproximadamente el -40 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 14 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -25 % y más preferentemente al menos el -30 % con respecto a un nivel predosis, particularmente si se administra en una dosis de aproximadamente 40 a aproximadamente 60 mg, preferentemente aproximadamente 45 a aproximadamente 55 mg y más preferentemente aproximadamente 50 mg en una pauta de administración bisemanal (cada dos semanas, E2W),
14. reducción de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el -50 % a aproximadamente el -65 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 14 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -40 % y más preferentemente al menos el -45 % con respecto a un nivel predosis, particularmente si se administra en una dosis de aproximadamente 100 mg E2W,
15. reducción de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el -60 % a al menos aproximadamente el -75 % [por ejemplo, al menos aproximadamente el -60 %, al menos aproximadamente el -65 %, al menos aproximadamente el -70 o al menos aproximadamente el -75 %] con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 14 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -55 % y más preferentemente al menos el -60 % con respecto a un nivel predosis, particularmente cuando se administra en una dosis de aproximadamente 150 mg E2W,
16. reducción de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el 40 % a aproximadamente el 75 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 28 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -35 % y más preferentemente al menos el -40 % con respecto a un nivel predosis, particularmente cuando se administra en una dosis de aproximadamente 200 mg E4W,
17. reducción de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el -50 % a aproximadamente el -75 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 28 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -40 % y más preferentemente al menos el -45 % con respecto a un nivel predosis, particularmente cuando se administra en una dosis de aproximadamente 300 mg E4W,
18. aumento de los niveles de colesterol de HDL en suero de al menos el 2 %, al menos el 2,5 %, al menos el 3 %, al menos el 3,5 %, al menos el 4 %, al menos el 4,5 %, al menos el 5 % o al menos el 5,5 % con respecto a un nivel predosis, particularmente cuando se administra en una dosis de aproximadamente 150 mg E2W,
19. reducción de colesterol total en suero de al menos aproximadamente el 25 % a aproximadamente el 35 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 24 días,
20. reducción de colesterol total en suero de al menos aproximadamente el 65 % a aproximadamente el 80 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 24 días,
21. reducción de los niveles de triglicéridos en suero de al menos aproximadamente el 25 % a aproximadamente el 40 % con respecto a un nivel predosis,
22. poco efecto o no medible sobre la función hepática, como se ha determinado por mediciones de ALT y AST,
23. poco efecto o no medible sobre los niveles de troponinas,
24. aumento de uno o más de: niveles de colesterol total, niveles de ApoB, niveles de C-no HDL, relación Apo-B/ApoA-1,

El anticuerpo del décimo quinto aspecto desvelado en el presente documento presenta las propiedades anteriores preferentemente si se administra en combinación con un tratamiento con inhibidor de HMG-CoA reductasa. Realizaciones preferidas de los inhibidores de HMG-CoA reductasa que van a usarse conjuntamente con el anticuerpo desvelado en el presente documento y pautas de dosificación y administración de los mismos pueden encontrarse en toda la memoria descriptiva, particularmente como se describe en aspectos 1, 2 o 19.

Según una realización preferida de los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos desvelados en el presente documento, particularmente del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno según el décimo quinto aspecto, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo tiene una o más de las siguiente características:

- 5 (i) El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno comprende CDRs de la cadena pesada y ligera de un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92.
- (ii) El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92.
- 10 (iii) El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo compite por unirse a PCSK9h con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92.

Según otra realización preferida de los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos desvelados en el presente documento, particularmente del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno según el décimo quinto aspecto, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo tiene una o más de las siguiente características:

- (i) vence la resistencia a estatinas en mamíferos, especialmente en roedores tales como hámster
- 15 (ii) aumento en la expresión de LDLR en mamíferos, particularmente en roedores tales como hámster
- (iii) disminución de C-LDL en suero en roedores tales como hámster
- (iv) disminución sinérgica de C-LDL conjuntamente con la administración de inhibidor de HMG-CoA reductasa, particularmente en roedores tales como hámster, en el que el inhibidor de HMG-CoA reductasa es preferentemente atorvastatina.

20 Características y características estructurales adecuadas adicionales del anticuerpo desvelado en el presente documento y particularmente del anticuerpo del décimo quinto aspecto, además de anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que pueden usarse para poner en práctica el décimo quinto aspecto y los otros aspectos de la presente divulgación, se describen en la sección "*Preferidos*".

25 El anticuerpo desvelado en el presente documento, tal como el anticuerpo según el décimo quinto aspecto, se formula preferentemente como una formulación farmacéuticamente administrable como se conoce en la técnica, y específicamente como se describe en el presente documento, tales como formulación seca para disolución o formulación líquida, por ejemplo, como se describe en el vigésimo primero o vigésimo segundo aspecto.

30 En un décimo sexto aspecto, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana) para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto, en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración en una dosis de aproximadamente 50 a 500 mg.

35 Realizaciones preferidas del décimo sexto aspecto desvelado en el presente documento se describen en el décimo quinto aspecto. Anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que pueden usarse para poner en práctica el décimo sexto aspecto de la presente divulgación se describen en la sección "*Anticuerpos preferidos*".

Según otra realización preferida del décimo sexto aspecto, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración en una dosis de aproximadamente 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 o 500 mg y preferentemente de aproximadamente 150, 200 o 300 mg.

40 Según otra realización preferida del décimo sexto aspecto, la enfermedad o afección está seleccionada del grupo que consiste en: niveles elevados de colesterol total, niveles elevados de lipoproteína de baja densidad (C-LDL), hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia y aterosclerosis, particularmente hipercolesterolemia primaria, hipercolesterolemia familiar o hipercolesterolemia que no es controlada por estatinas.

Según otra realización preferida del décimo sexto aspecto, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al sujeto cada dos semanas (E2W), cada cuatro semanas (E4W) o una vez al mes.

45 Según otra realización preferida del décimo sexto aspecto, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo tiene una o más de las siguiente características:

- (i) Es para su uso en la reducción de los niveles de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el -25 % a aproximadamente el -40 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 14 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -25 % y más preferentemente al menos el -30 % con respecto a un nivel predosis, en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra preferentemente en una dosis de

aproximadamente 40 a aproximadamente 60 mg, aproximadamente 45 a aproximadamente 55 mg o aproximadamente 50 mg E2W.

5 (ii) Es para su uso en la reducción de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el -50 % a aproximadamente el -65 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 14 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -40 % y más preferentemente al menos el -45 % con respecto a un nivel predosis, en el que el anticuerpo o fragmento del mismo se administra preferentemente en una dosis de aproximadamente 100 mg E2W.

10 (iii) Es para su uso en la reducción de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el -60 % a al menos aproximadamente el -75 % [por ejemplo, al menos aproximadamente el -60 %, al menos aproximadamente el -65 %, al menos aproximadamente el -70 o al menos aproximadamente el -75 %] con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 14 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -55 % y más preferentemente al menos el -60 % con respecto a un nivel predosis, en el que el anticuerpo o fragmento del mismo se administra preferentemente en una dosis de aproximadamente 150 mg E2W.

15 (iv) Es para su uso en la reducción de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el 40 % a aproximadamente el 75 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 28 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -35 % y más preferentemente al menos el -40 % con respecto a un nivel predosis, en el que el anticuerpo o fragmento del mismo se administra preferentemente en una dosis de aproximadamente 200 mg E4W.

20 (v) Es para su uso en la reducción de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el -50 % a aproximadamente el -75 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 28 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -40 % y más preferentemente al menos el -45 % con respecto a un nivel predosis, en el que el anticuerpo o fragmento del mismo se administra preferentemente en una dosis de aproximadamente 300 mg E4W.

25 (vi) Es para su uso en el aumento de los niveles de colesterol de HDL en suero de al menos el 2 %, al menos el 2,5 %, al menos el 3 %, al menos el 3,5 %, al menos el 4 %, al menos el 4,5 %, al menos el 5 % o al menos el 5,5 % con respecto a un nivel predosis.

30 (vii) Es para su uso en la reducción de colesterol total en suero al menos aproximadamente el 25 % a aproximadamente el 35 % con respecto a un nivel predosis con reducción sostenida durante al menos un periodo de 24 días.

(viii) Es para su uso en la reducción de colesterol total en suero al menos aproximadamente el 65 % a aproximadamente el 80 % con respecto a un nivel predosis con reducción sostenida durante al menos un periodo de 24 días.

35 25. Es para su uso en la reducción de los niveles de triglicéridos en suero de al menos aproximadamente el 25 % a aproximadamente el 40 % con respecto a un nivel predosis.

26. Tiene poco efecto o no medible sobre la función hepática, como se ha determinado por mediciones de ALT y AST, o sobre los niveles de troponinas.

27. Es para su uso en el aumento de uno o más de: niveles de colesterol total, niveles de ApoB, niveles de C-no HDL, relación Apo-B/ApoA-1.

40 Según otra realización preferida del décimo sexto aspecto, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para su uso junto con un inhibidor de HMG-CoA reductasa, en el que el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra preferentemente en una cantidad de dosis en el intervalo de aproximadamente 0,05 mg a aproximadamente 100 mg y es preferentemente una estatina, en el que la estatina está seleccionada preferentemente del grupo que consiste en: cerivastatina, atorvastatina, simvastatina, pitavastatina, rosuvastatina, fluvastatina, lovastatina o pravastatina.

Según otra realización preferida del décimo sexto aspecto, la estatina se administra según una o más de las siguientes pautas de dosificación o administración:

(i) la estatina se administra una vez por día,

50 (ii) la estatina se administra a una dosis de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 100 mg, aproximadamente 5 a aproximadamente 90 mg, de aproximadamente 10, 20, 40 u 80 mg y es preferentemente atorvastatina.

Pautas de dosificación y administración adicionales del anticuerpo, fragmento de antígeno del mismo o inhibidor de HMG-CoA reductasa se describen en los otros aspectos desvelados en el presente documento y preferentemente en el primer, segundo o décimo noveno aspecto.

En un décimo séptimo aspecto, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana) para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto,

- 5 en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración a un sujeto que se encuentra en al menos uno de los siguientes grupos de sujetos: (i) sujetos que tienen un nivel de colesterol de (C-LDL) en suero de al menos 100 mg/dl, preferentemente al menos 130 mg/dl, más preferentemente al menos 160 mg/dl, incluso más preferentemente al menos 200 mg/dl; (ii) sujetos que tienen un nivel de HDL-C en suero inferior a 40 mg/dl; (iii) sujetos que tienen un nivel de colesterol en suero de al menos 200 mg/dl, preferentemente al menos 240 mg/dl; (iv) sujetos que tienen un nivel de triacilglicerol en suero de al menos 150 mg/dl, por ejemplo, al menos 200 mg/dl o al menos 500 mg/dl, en el que dicho nivel de triacilglicerol se determina después de ayunar durante al menos 8 horas; (v) sujetos que tienen al menos 35 años, por ejemplo, al menos 40 años, al menos 45 años, al menos 50 años, al menos 55 años, al menos 60 años, al menos 65 años, o al menos 75 años; (vi) sujetos más jóvenes de 75 años, por ejemplo, más jóvenes de 70 años, más jóvenes de 65 años, más jóvenes de 60 años, más jóvenes de 55 años, más jóvenes de 50 años, más jóvenes de 45 años, o más jóvenes de 40 años; (vii) sujetos que tienen un IMC de 25 o más (por ejemplo, 26 o más, 27 o más, 28 o más, 29 o más, 30 o más, 31 o más, 32 o más, 33 o más, 34 o más, 35 o más, 36 o más, 37 o más, 38 o más, o 39 o más); (viii) sujetos masculinos; (ix) sujetos femeninos; (x) sujetos en los que la administración de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo conduce a una reducción en el nivel de C-LDL en suero de al menos 30 mg/dl, preferentemente de al menos 40 mg/dl, más preferentemente de al menos 50 mg/dl, más preferentemente de al menos 60 mg/dl, más preferentemente de al menos 70 mg/dl, con respecto al nivel predosis; o (xi) sujetos en los que la administración de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo conduce a una reducción en el nivel de C-LDL en suero de al menos el 20 %, preferentemente de al menos el 30 %, más preferentemente de al menos el 40 %, más preferentemente de al menos el 50 %, más preferentemente de al menos el 60 %, con respecto al nivel predosis.

- 25 En un décimo octavo aspecto, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana) para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto,

- en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración a un sujeto que no se clasifica en uno o más de los siguientes grupos de sujetos: (i) fumadores; (ii) personas de 70 años o mayores; (iii) personas que padecen hipertensión; (iv) mujeres que están embarazadas; (v) mujeres que están intentando quedarse embarazadas; (vi) mujeres que están dando de mamar; (vii) personas que tienen o han tenido alguna vez una enfermedad que afecta al hígado; (viii) personas que tuvieron algún análisis de sangre anormal inexplicado para la función hepática; (ix) personas que beben excesivas cantidades de alcohol; (x) personas que tienen problemas de riñón; (xi) personas que padecen hipotiroidismo; (xii) personas que padecen trastornos musculares; (xiii) personas que han tenido problemas musculares previos durante el tratamiento con medicina hipolipemiente; (xiv) personas que tienen graves problemas con su respiración; (xv) personas que toman una o más de las siguientes medicinas: medicinas que alteran la forma en la que trabajan los sistemas inmunitarios (por ejemplo, ciclosporina o antihistamínicos), antibióticos o medicinas antifúngicas (por ejemplo, eritromicina, claritromicina, ketoconazol, itraconazol, rifampicina, ácido fusídico), medicinas que regulan los niveles de lípidos (por ejemplo, gemfibrozilo, colestipol), bloqueantes de los canales de calcio (por ejemplo, verapamilo, diltiazem), medicinas que regulan el ritmo cardíaco (digoxina, amiodarona), inhibidores de la proteasa usados en el tratamiento de VIH (por ejemplo, nelfinavir), warfarina, anticonceptivos orales, antiácidos o hierba de san Juan; o (xvi) personas que beben más de 0,1 l de zumo de pomelo al día o que comen más de medio pomelo por día; (xvii) personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) superior a 40; (xviii) personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) inferior a 18; (xix) personas que padecen diabetes de tipo 1 o diabetes de tipo 2; (xx) personas positivas para hepatitis B o hepatitis C; (xxi) personas que tienen una sensibilidad conocida a fármacos terapéuticos de anticuerpos monoclonales; (xxii) personas que tienen una concentración de neutrófilos inferior a 1500/mm<sup>3</sup>; (xxiii) personas que tienen una concentración de plaquetas inferior a 100000/mm<sup>3</sup>; (xxiv) varones que tienen un nivel de creatinina en suero mayor de 1,5 x ULN (límite superior de la normalidad); (xxv) mujeres que tienen un nivel de creatinina en suero mayor de 1,4 x ULN (límite superior de la normalidad); (xxvi) personas que tienen un nivel de alanina transaminasa (ALT) o nivel de aspartato transaminasa (AST) mayor de 2 x ULN; o (xxvii) personas que tienen un nivel de CPK mayor de 3 x ULN.

En realizaciones preferidas del décimo quinto a décimo octavo aspecto, la enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto se mejora, corrige, inhibe o previene con un antagonista de PCSK9.

- 55 En realizaciones preferidas del décimo quinto a décimo octavo aspecto, la enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto está seleccionada del grupo que consiste en: niveles elevados de C-LDL, hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares, o cualquiera otra de las enfermedades y afecciones descritas en el primer o segundo aspecto.

- 60 En realizaciones preferidas del décimo quinto a décimo octavo aspecto, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración a un sujeto indicado para aféresis de LDL, un sujeto con mutaciones activantes de PCSK9, un sujeto con hipercolesterolemia familiar heterocigótica, un sujeto con hipercolesterolemia



primaria, por ejemplo, un sujeto con hipercolesterolemia familiar primaria o no familiar primaria, un sujeto con hipercolesterolemia tal como hipercolesterolemia primaria que no es controlada con estatinas, un sujeto en riesgo de desarrollar hipercolesterolemia, un sujeto con hipercolesterolemia, un sujeto con hiperlipidemia, un sujeto con dislipidemia, un sujeto con aterosclerosis o un sujeto con enfermedades cardiovasculares o cualquier otro de los sujetos como se describe en el primer o segundo aspecto. Lo más preferentemente, el sujeto es un sujeto humano.

Anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que pueden usarse para poner en práctica el décimo quinto a décimo octavo aspecto de la presente divulgación se describen en la sección "*Anticuerpos preferidos*".

En realizaciones preferidas del décimo sexto a décimo octavo aspecto, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración en combinación con una dosificación de entre 0,05 mg y 100 mg de un inhibidor de HMG-CoA reductasa. En algunas realizaciones, el inhibidor de HMG-CoA reductasa va a administrarse tres veces por día, dos veces por día, o una vez por día. En algunas realizaciones, el inhibidor de HMG-CoA reductasa va a administrarse cada día, cada dos días, cada tercer día, cada cuarto día, cada quinto día, o cada sexto día. En algunas realizaciones, el inhibidor de HMG-CoA reductasa va a administrarse cada semana, cada dos semanas, cada tres semanas, o cada cuatro semanas. En algunas realizaciones, el inhibidor de HMG-CoA reductasa va a administrarse por la mañana, al mediodía o por la tarde. En realizaciones preferidas, el inhibidor de HMG-CoA reductasa va a administrarse una vez por día, preferentemente por vía oral, preferentemente por la tarde. Preferentemente, el inhibidor de HMG-CoA reductasa es una estatina. Más preferentemente, la estatina está seleccionada del grupo que consiste en cerivastatina, atorvastatina, simvastatina, pitavastatina, rosuvastatina, fluvastatina, lovastatina y pravastatina. En realizaciones preferidas adicionales del décimo sexto a décimo octavo aspecto, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es para administración en combinación con una estatina, en el que la estatina es

- cerivastatina que va a administrarse en una dosis diaria de entre 0,05 mg y 2 mg, preferentemente en una dosis diaria de 0,2 mg, 0,4 mg, o 0,8 mg;
- atorvastatina que va a administrarse en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg;
- simvastatina que va a administrarse en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 5 mg, 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg;
- pitavastatina que va a administrarse en una dosis diaria de entre 0,2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 1 mg, 2 mg, 5 mg, 10 mg, o 20 mg;
- rosuvastatina que va a administrarse en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 5 mg, 10 mg, 20 mg, o 40 mg;
- fluvastatina que va a administrarse en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 20 mg, 40 mg, u 80 mg;
- lovastatina que va a administrarse en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg; o
- pravastatina que va a administrarse en una dosis diaria de entre 2 mg y 100 mg, preferentemente en una dosis diaria de 10 mg, 20 mg, 40 mg, u 80 mg.

Una realización preferida adicional de la presente divulgación combina las características del décimo sexto y décimo séptimo o el décimo sexto y décimo octavo o el décimo séptimo y décimo octavo o el décimo sexto y décimo séptimo y décimo octavo aspecto como se describe en el presente documento.

En un décimo noveno aspecto, la presente divulgación se refiere a una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo desvelado en el presente documento junto con un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

Según una realización preferida del décimo noveno aspecto, el anticuerpo o fragmento del mismo es como se describe en el décimo quinto, primero o segundo aspecto; características adecuadas adicionales del anticuerpo se describen en la sección "*Anticuerpos preferidos*".

Según otra realización preferida, la composición farmacéutica comprende aproximadamente aproximadamente 40 a aproximadamente 500 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno por dosis.

Según otra realización preferida, la composición farmacéutica comprende aproximadamente aproximadamente 50 mg a aproximadamente 500 mg, aproximadamente 50 mg a aproximadamente 300 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 350 mg, de aproximadamente 400 mg, aproximadamente 450 mg o aproximadamente 500 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo.

Según otra realización preferida, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 150, 200 o 300 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo.

Según otra realización preferida, la composición farmacéutica comprende una dosis eficaz de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h (proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana), en el que la dosis es suficiente para reducción sostenida de los niveles de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) durante un periodo de al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23 o al menos 28 días después de la administración, junto con un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Según otra realización preferida, la dosis es suficiente para reducción sostenida de niveles de C-LDL durante un periodo de al menos 14 días, 28 días o 1 mes.

Según otra realización preferida, la composición farmacéutica comprende una cantidad eficaz de un inhibidor de HMG-CoA reductasa.

Según otra realización preferida, la composición farmacéutica se dispone junto con una cantidad eficaz de un inhibidor de HMG-CoA reductasa.

Según otra realización preferida, el inhibidor de HMG-CoA reductasa es una estatina, seleccionada preferentemente de la lista que consiste en: cerivastatina, atorvastatina, simvastatina, pitavastatina, rosuvastatina, fluvastatina, lovastatina o pravastatina y es preferentemente atorvastatina.

Según otra realización preferida, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 0,05 mg a aproximadamente 100 mg, aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 100 mg, aproximadamente 5 mg a aproximadamente 90 mg, aproximadamente 10 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 40 mg o aproximadamente 80 mg de inhibidor de HMG-CoA reductasa y preferentemente aproximadamente 10, aproximadamente 20, aproximadamente 40 o aproximadamente 80 mg.

Según otra realización preferida, la composición farmacéutica comprende una dosis eficaz de inhibidor de HMG-CoA reductasa para reducir los niveles de LDL-D por administración una vez por día.

El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que va a usarse para la composición farmacéutica desvelada en el presente documento puede ser cualquier anticuerpo como se describe en el presente documento, tal como en la sección "*Anticuerpos preferidos*" o en el décimo quinto y aspectos adicionales.

Según una realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo tiene una o más de las siguiente características cuando se administra a un sujeto, tal como un mamífero humano o no humano:

a. reducción de los niveles de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el -25 % a aproximadamente el -40 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 14 días tras la administración a un sujeto, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -25 % y más preferentemente al menos el -30 % con respecto a un nivel predosis, particularmente si se administra en una dosis de aproximadamente 40 a aproximadamente 60 mg, preferentemente aproximadamente 45 a aproximadamente 55 mg y más preferentemente aproximadamente 50 mg en una pauta de administración bisemanal (cada dos semanas, E2W);

b. reducción de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el -50 % a aproximadamente el -65 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 14 días tras la administración a un sujeto, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -40 % y más preferentemente al menos el -45 % con respecto a un nivel predosis, particularmente si se administra en una dosis de aproximadamente 100 mg E2W.

c. reducción de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el -60 % a al menos aproximadamente el -75 % [por ejemplo, al menos aproximadamente el -60 %, al menos aproximadamente el -65 %, al menos aproximadamente el -70 o al menos aproximadamente el -75 %] con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 14 días tras la administración a un sujeto, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -55 % y más preferentemente al menos el -60 % con respecto a un nivel predosis, particularmente cuando se administra en una dosis de aproximadamente 150 mg E2W,

d. reducción de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el 40 % a aproximadamente el 75 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 28 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -35 % y más preferentemente al menos el -40 % con respecto a un nivel predosis, particularmente cuando se administra en una dosis de aproximadamente 200 mg E4W

e. reducción de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) de al menos aproximadamente el -50 % a aproximadamente el -75 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un

periodo de 28 días tras la administración a un sujeto, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -40 % y más preferentemente al menos el -45 % con respecto a un nivel predosis, particularmente cuando se administra en una dosis de aproximadamente 300 mg E4W,

5 f. aumento de los niveles de colesterol de HDL en suero de al menos el 2 %, al menos el 2,5 %, al menos el 3 %, al menos el 3,5 %, al menos el 4 %, al menos el 4,5 %, al menos el 5 % o al menos el 5,5 % con respecto a un nivel predosis tras la administración a un sujeto, particularmente cuando se administra en una dosis de aproximadamente 150 mg E2W,

g. poco efecto o no medible sobre los niveles de troponinas tras la administración a un sujeto,

10 h. aumento de uno o más de: niveles de colesterol total, niveles de ApoB, niveles de C-no HDL, relación Apo-B/ApoA-1, tras la administración a un sujeto.

Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es capaz de vencer la resistencia a estatinas cuando se administra a un sujeto con hipercolesterolemia resistente a estatinas.

15 Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las CDRs de la cadena pesada y ligera de un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92 o un par de secuencias sustancialmente idénticas que tienen al menos el 98 % o el 99 % de identidad con las mismas.

Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92 o un par de secuencias sustancialmente idénticas que tienen al menos el 98 % o el 99 % de identidad con las mismas.

20 Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo compete por unirse a PCSK9h con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92.

Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo une un epítipo que comprende el resto de aminoácido 238 de PCSK9h (SEQ ID NO: 755).

25 Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo une un epítipo que comprende uno o más de los restos de aminoácidos en las posiciones 238, 153, 159 y 343 de PCSK9h (SEQ ID NO: 755).

Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo une un epítipo que no comprende un resto de aminoácido en las posiciones 192, 194, 197 y/o 237 de PCSK9h (SEQ ID NO: 755).

30 La composición farmacéutica puede formularse según cualquiera formulación farmacéuticamente administrable como se conoce en la técnica, y específicamente como se describe en el presente documento, tales como formulación seca para disolución o formulación líquida. Formulaciones adecuadas de anticuerpos se conocen en la técnica y comprenden formulaciones secas (por ejemplo, secadas por congelación, secadas por pulverización o liofilizadas, concentrado sin agua), además de formulaciones líquidas (por ejemplo, disoluciones). Formulaciones  
35 adecuadas de estatinas son muy conocidos en la técnica y comprenden formulaciones secas, además de formulaciones líquidas, por ejemplo, suspensiones, dispersiones y disoluciones (para una referencia véase, por ejemplo, "Statins therapy: a review on conventional and novel formulation approaches" R. Tiwari y K. Pathak, Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2011, que se incorpora por este documento en totalidad).

40 Según una realización preferida, la composición farmacéutica comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo como formulación seca para disolución tal como un polvo liofilizado, polvo secado por congelación o secado por pulverización o concentrado sin agua.

Según otra realización preferida, la composición farmacéutica comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo como formulación líquida, por ejemplo, disolución para inyección o infusión.

45 Según otra realización preferida, la composición farmacéutica comprende el inhibidor de HMG-CoA reductasa como formulación oral o peroral, por ejemplo, cápsula o comprimido, o como formulación líquida, por ejemplo, suspensión, dispersión o disolución, por ejemplo, para administración peroral, inyección o infusión.

50 Según otra realización preferida, la composición farmacéutica es para su uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto o para reducir los niveles elevados de colesterol total o elevados de C-LDL. Usos adicionalmente preferidos, pautas posológicas, pautas de administración del anticuerpo o fragmento del mismo o del inhibidor de HMG-CoA reductasa, o poblaciones que van a tratarse con la composición farmacéutica se describen en la presente solicitud, por ejemplo, en los otros aspectos desvelados en el presente documento tales como el primer o segundo aspecto.

En un vigésimo aspecto, la presente divulgación se refiere a una disolución para inyección como se describe en el presente documento que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo desvelado en el presente documento, y preferentemente que comprende aproximadamente 40 mg a aproximadamente 200 mg o aproximadamente 50 a aproximadamente 200 mg, por ejemplo, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg o aproximadamente 200 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo por 1 ml de volumen.

En un vigésimo primer aspecto, la presente divulgación se refiere a una formulación seca como se describe en el presente documento que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo desvelado en el presente documento, y preferentemente que comprende aproximadamente 40 mg a aproximadamente 500 mg, 50 a aproximadamente 500 mg, aproximadamente 50 a aproximadamente 400, aproximadamente 50 a aproximadamente 300 por ejemplo, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 450 mg o aproximadamente 500 mg y más preferentemente aproximadamente 50 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 300 mg e incluso más preferentemente aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg o aproximadamente 300 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo por dosis.

Las formulaciones desveladas en el presente documento pueden comprender principios activos adicionales tales como un inhibidor de HMG-CoA reductasa como se describe en el presente documento. Realizaciones preferidas del 20º o 21º aspecto se describen en otras secciones de la presente solicitud, por ejemplo, en los otros aspectos desvelados en el presente documento tales como el décimo quinto, décimo noveno o vigésimo aspecto.

Formulaciones adecuadas de anticuerpos se conocen en general en la técnica y comprenden formulaciones secas (por ejemplo, secadas por congelación, secadas por pulverización o liofilizadas, concentrado sin agua), además de formulaciones líquidas (por ejemplo, disoluciones). Formulaciones adecuadas de estatinas son muy conocidas en la técnica y comprenden formulaciones secas, además de formulaciones líquidas, por ejemplo, suspensiones, dispersiones y disoluciones (para una referencia véase, por ejemplo, "Statins therapy: a review on conventional and novel formulation approaches" R. Tiwari y K. Pathak, Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2011, que se incorpora por este documento en totalidad).

Según un vigésimo segundo aspecto, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo como está comprendido en una de las composiciones farmacéuticas según el décimo noveno aspecto.

En un vigésimo tercer aspecto, la presente divulgación se refiere a una forma de dosificación unitaria que comprende el anticuerpo, fragmento de unión al antígeno del mismo o composición farmacéutica desvelada en el presente documento. Realizaciones adecuadas del anticuerpo, composición farmacéutica o formulación que van a usarse para poner en práctica el vigésimo tercer aspecto desvelado en el presente documento puede obtenerse de las secciones respectivas de la presente solicitud, tales como el primer, segundo, décimo noveno, vigésimo, vigésimo primero o vigésimo segundo aspectos o de la sección "*Anticuerpos preferidos*".

Según una realización preferida, la forma de dosificación unitaria comprende aproximadamente 40 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 75 mg, at aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 450 mg, o aproximadamente 500 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo.

Según otra realización preferida, la forma de dosificación unitaria comprende el anticuerpo o fragmento del mismo como formulación seca para disolución en un envase herméticamente sellado tal como un vial, una ampolla o sobre.

Según otra realización preferida, la forma de dosificación unitaria comprende el anticuerpo o fragmento del mismo como formulación líquida en un envase herméticamente sellado tal como un vial, un sobre, una jeringa precargada, autoinyector precargado o un cartucho para una jeringa o aplicador reutilizable.

Según otra realización preferida, la cantidad de principio activo se indica en el envase herméticamente sellado.

Como se usa en los diferentes aspectos y realizaciones desvelados en el presente documento y particularmente en el vigésimo tercer aspecto, el término "forma de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y animales, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo (por ejemplo, aproximadamente 40 mg o aproximadamente 50 mg a aproximadamente 500 mg de anticuerpo contra PCSK5 y/o de, por ejemplo, 0,05 mg a 100 mg de inhibidor de HMG-CoA reductasa) calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el diluyente, soporte o vehículo farmacéutico requerido. Las especificaciones para las novedosas formas de dosificación unitaria desveladas en el presente documento están impuestas por y son directamente dependientes de (a) las características únicas del material activo y el efecto terapéutico particular que va a lograrse, y (b) la limitación inherente en la materia de combinar un material activo tal para uso terapéutico en animales o seres humanos, como

se desvela en esta memoria descriptiva, siendo éstas características de la presente divulgación. Ejemplos de formas de dosificación unitaria adecuadas según la presente divulgación son viales, comprimidos, cápsulas, trociscos, supositorios, envases de polvo, obleas, sellos, ampollas, múltiplos segregados de cualquiera de los anteriores, y otras formas como se describe en el presente documento o generalmente conocidas en la técnica.

- 5 Uno o más de tales formas de dosificación unitaria del anticuerpo pueden estar comprendidas en un artículo de fabricación desvelado en el presente documento, que opcionalmente comprende además una o más formas de dosificación unitaria de un inhibidor de HMG-CoA reductasa (por ejemplo, un envase alveolado de comprimidos que comprenden como principio activo el inhibidor de HMG-CoA reductasa).

- 10 El término "material activo" se refiere a cualquier material con actividad terapéutica, tal como uno o más principios activos. Los principios activos que van a emplearse como agentes terapéuticos pueden ser fácilmente preparados en tal forma de dosificación unitaria con el empleo de materiales farmacéuticos que ellos mismos están disponibles en la materia y pueden prepararse por procedimientos establecidos. Principios activos preferidos desvelados en el presente documento son el anticuerpo o fragmento del mismo o un inhibidor de HMG-CoA reductasa tal como una estatina.

- 15 En una realización preferida, la forma de dosificación unitaria comprende 40 - aproximadamente 500 mg del anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno desvelado en el presente documento. Según otra realización preferida, la forma de dosificación unitaria comprende aproximadamente 40 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 450 mg, o aproximadamente 500 mg y más preferentemente aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg o aproximadamente 300 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo. Dosificaciones preferidas adicionales, y pautas posológicas, son como se describe en cualquier parte en la solicitud, tal como en el primer, segundo o décimo quinto a décimo noveno aspecto.

- 25 Según otro aspecto preferido, la forma de dosificación unitaria comprende el anticuerpo, fragmento de unión al antígeno del mismo o composición farmacéutica como formulación seca para disolución tal como un polvo liofilizado, polvo secado por congelación o concentrado sin agua. Según otra realización preferida, la formulación seca está comprendida en un envase herméticamente sellado tal como un vial, una ampolla o sobre.

- Según otra realización preferida, la forma de dosificación unitaria comprende el anticuerpo, fragmento de unión al antígeno del mismo o composición farmacéutica como formulación líquida, por ejemplo, disolución para inyección o infusión. Según otra realización preferida, la formulación líquida está comprendida en un envase herméticamente sellado tal como un vial, un sobre, una jeringa precargada, un auto-inyector precargado o un cartucho para una jeringa o aplicador reutilizable.

- 30 Es además preferido, si la cantidad de principio activo (por ejemplo, anticuerpo) se indica sobre el envase herméticamente sellado de la forma de dosificación unitaria.

- 35 Las siguientes preparaciones son ilustrativas de la preparación de las formas de dosificación unitaria de la presente divulgación, y no como una limitación de las mismas. Pueden prepararse varias formas de dosificación que están integradas en la presente divulgación. Por ejemplo, una dosificación unitaria por vial puede contener 0,5 ml, 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml, 6 ml, 7 ml, 8 ml, 9 ml, 10 ml, 15 ml, o 20 ml de anticuerpo contra PCSK5 o un fragmento del mismo que oscila de aproximadamente 40 a aproximadamente 500 mg de anticuerpo contra PCSK5. Si fuera necesario, estas preparaciones pueden ajustarse a una concentración deseada añadiendo un diluyente estéril a cada vial.

- 40 En una realización, los componentes de la formulación desvelados en el presente documento se suministran ya sea por separado o mezclados juntos en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como una formulación seca para disolución o una formulación líquida. La preparación de formulaciones farmacéuticamente aceptables de biomoléculas proteínicas tales como anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos o de compuestos de molécula pequeña tales como estatinas es generalmente conocida en la técnica. Según una realización preferida, los principios activos, material activo o composición farmacéutica desvelados en el presente documento es una formulación seca para disolución en líquido, tal como un polvo liofilizado, polvo secado por congelación o concentrado sin agua, preferentemente comprendidos en un envase herméticamente sellado tal como un vial, una ampolla o sobre, y preferentemente que indica la cantidad de agente activo. Donde la composición va a administrarse por infusión, puede dispensarse con una botella de infusión que contiene agua estéril de calidad farmacéutica o solución salina. Donde la composición se administra mediante inyección, puede proporcionarse una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina de manera que los componentes puedan mezclarse antes de la administración.

- 55 Las formulaciones desveladas en el presente documento incluyen composiciones de fármaco a granel útiles en la fabricación de composiciones farmacéuticas (por ejemplo, composiciones que son adecuadas para administración a un sujeto o paciente) que pueden usarse en la preparación de formas de dosificación unitaria. En una realización preferida, una composición desvelada en el presente documento es una composición farmacéutica. Tales

composiciones comprenden una cantidad profilácticamente o terapéuticamente eficaz de uno o más agentes profilácticos o terapéuticos (por ejemplo, un anticuerpo desvelado en el presente documento u otro agente profiláctico o terapéutico), y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Preferentemente, las composiciones farmacéuticas se formulan para ser adecuadas para la vía de administración a un sujeto.

- 5 En una realización específica, el término "farmacéuticamente aceptable" significa autorizado por una agencia reguladora del gobierno federal de los EE.UU. o estatal o la AEM (Agencia Europea del Medicamento) o enumerada en la Farmacopea de los EE.UU. (United States Pharmacopeia-33/National Formulary-28 Reissue, publicado por United States Pharmacopeia Convention, Inc., Rockville Md., fecha de publicación: Abril de 2010) u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales, y más particularmente en seres humanos.
- 10 El término "vehículo" se refiere a un diluyente, adyuvante {por ejemplo, adyuvante de Freund (completo y incompleto)}, excipiente, o vehículo con el que se administra el fármaco terapéutico. Tales vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua y aceites, que incluyen aquellos de origen de petróleo, animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo. El agua es un vehículo preferido cuando la composición farmacéutica se administra por vía intravenosa. También pueden
- 15 emplearse soluciones salinas y disoluciones acuosas de dextrosa y glicerol como vehículos líquidos, particularmente para disoluciones inyectables. Excipientes farmacéuticos adecuados incluyen almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, caliza, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro sódico, leche desnatada en polvo, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol. La composición, si se desea, también puede contener cantidades menores de agentes humectantes o emulsionantes, o agentes de tamponamiento del pH.
- 20 Estas composiciones pueden tomar la forma de disoluciones, suspensiones, emulsión, comprimidos, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación sostenida. La formulación oral puede incluir vehículos estándar tales como calidades farmacéuticas de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, celulosa, carbonato de magnesio. Ejemplos de vehículos farmacéuticos adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" por E. W. Martin. Tales composiciones contendrán una cantidad profilácticamente o
- 25 terapéuticamente eficaz del anticuerpo, preferentemente en forma purificada, junto con una cantidad adecuada de vehículo de manera que se proporcione la forma para la apropiada administración al paciente. La composición puede contener además uno o varios de otros principios activos tales como un inhibidor de HMG-CoA reductasa. La formulación debe adaptarse al modo de administración.
- 30 Generalmente, los componentes de composiciones desvelados en el presente documento se suministran ya sea por separado o mezclados juntos en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como una formulación seca para disolución tal como un polvo liofilizado, polvo secado por congelación o concentrado sin agua en un envase herméticamente sellado tal como una ampolla o sobre que indica la cantidad de agente activo. Los componentes de composiciones desvelados en el presente documento también pueden suministrarse como formulación líquida mezclada (es decir, disolución para inyección o infusión) en un envase herméticamente sellado tal como una
- 35 ampolla, sobre, una jeringa precargada o autoinyector, o un cartucho para una jeringa o aplicador reutilizable (por ejemplo, pluma o autoinyector). Donde la composición va a administrarse por infusión, puede dispensarse con una botella de infusión que contiene agua estéril de calidad farmacéutica o solución salina. Donde la composición se administra mediante inyección, puede proporcionarse una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina de manera que los componentes puedan mezclarse antes de la administración. La composición también puede
- 40 comprender dos o más principios activos que son cada uno formulados de una manera diferente o de la misma manera, por ejemplo, una combinación de un anticuerpo desvelado en el presente documento junto con un inhibidor de HMG-CoA reductasa desvelado en el presente documento.
- 45 La divulgación también proporciona que la formulación se envase en un envase herméticamente sellado tal como una ampolla o sobre que indica la cantidad de anticuerpo. En una realización, la formulación desvelada en el presente documento que comprende un anticuerpo se suministra como un polvo liofilizado esterilizado seco, polvo secado por congelación o concentrado sin agua en un envase herméticamente sellado y puede reconstituirse, por ejemplo, con agua o solución salina a la concentración apropiada para administración a un sujeto. En una realización, la formulación desvelada en el presente documento que comprende un anticuerpo se suministra como
- 50 un polvo liofilizado estéril seco en un envase herméticamente sellado a una dosificación unitaria de al menos 40 mg, al menos 50 mg, más preferentemente al menos 75 mg, al menos 100 mg, al menos 150 mg, al menos 200 mg, al menos 250 mg, al menos 300 mg, al menos 350 mg, al menos 400 mg, al menos 450 mg, o al menos 500 mg, de anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo. La formulación liofilizada desvelada en el presente documento que comprende un anticuerpo debe almacenarse a entre 2 y 8 °C en su recipiente original y el anticuerpo debe administrarse en el plazo de 12 horas, preferentemente en el plazo de 6 horas, en el plazo de 5 horas, en el
- 55 plazo de 3 horas, o en el plazo de 1 hora después de ser reconstituido. La formulación desvelada en el presente documento que comprende anticuerpos puede formularse como formas neutras o de sal. Sales farmacéuticamente aceptables incluyen aquellas formadas con aniones tales como aquellas derivadas de ácidos clorhídrico, fosfórico, acético, oxálico, tartárico, y aquellas formadas con cationes tales como aquellas derivadas de hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio, férricos, isopropilamina, trietilamina, 2-etilaminoetanol, histidina, procaína.
- 60 En un vigésimo cuarto aspecto, la presente divulgación se refiere a un artículo de fabricación que comprende la composición farmacéutica desvelada en el presente documento, la formulación líquida desvelada en el presente documento o la formulación seca desvelada en el presente documento, el anticuerpo o fragmento de unión al

antígeno del mismo desvelado en el presente documento, o una o más formas de dosificación unitaria desveladas en el presente documento y un recipiente o envase.

5 Según otra realización preferida, el artículo de fabricación comprende formas de dosificación unitaria suficientes de anticuerpo para un periodo de dos semanas (14 días), cuatro semanas (28 días) o un mes, con cualquiera de E2W, E4W o una pauta de administración de una vez al mes.

10 El artículo de fabricación puede comprender una o más formas de dosificación unitaria que contienen tanto el anticuerpo como el inhibidor de HMG CoA, por ejemplo, una forma de dosificación unitaria que comprende una formulación líquida para inyección o infusión que comprende ambos principios activos. El artículo de fabricación también puede comprender el anticuerpo (o fragmento de unión al antígeno del mismo) y el inhibidor de HMG-CoA reductasa en dos o más formas de dosificación unitaria separadas.

Según una realización, el artículo de fabricación comprende una o más formas de dosificación unitaria separadas del y el inhibidor de HMG-CoA reductasa desvelado en el presente documento.

Según una realización preferida, cada forma de dosificación unitaria del inhibidor de HMG-CoA reductasa comprende aproximadamente 0,05 mg a aproximadamente 100 mg de inhibidor de HMG-CoA reductasa.

15 Según otra realización preferida, el inhibidor de HMG-CoA reductasa es una estatina, seleccionada preferentemente de la lista que contiene: cerivastatina, atorvastatina, simvastatina, pitavastatina, rosuvastatina, fluvastatina, lovastatina o pravastatina y preferentemente atorvastatina.

Según otra realización preferida, el inhibidor de HMG-CoA reductasa, por ejemplo, la estatina, está en una dosis eficaz para administración una vez por día.

20 Según otra realización preferida, la forma de dosificación unitaria de inhibidor de HMG-CoA reductasa comprende aproximadamente 0,5 a aproximadamente 100 mg, aproximadamente 5 a aproximadamente 90 mg, de aproximadamente 10, 20, 40 u 80 mg de inhibidor de HMG-CoA reductasa.

Según otra realización preferida, el artículo de fabricación comprende formas de dosificación unitaria suficientes de inhibidor de HMG-CoA reductasa para una pauta de administración diaria.

25 Según otra realización preferida, la forma de dosificación unitaria que comprende el anticuerpo es un sobre, una jeringa precargada, un auto-inyector precargado o un cartucho para una jeringa o aplicador reutilizable, especialmente que comprende 1 ml o 2 ml de disolución para inyección.

Según otra realización, el artículo de fabricación comprende una o más de los siguientes componentes:

30 i. Una o más formas de dosificación unitaria que comprenden el anticuerpo desvelado en el presente documento

j. Una o más formas de dosificación unitaria que comprenden el inhibidor de HMG-CoA reductasa desvelado en el presente documento;

k. Instrucciones para su uso;

l. Un dispositivo para la administración del anticuerpo tal como una jeringa.

35 Según otra realización preferida, el artículo de fabricación comprende formas de dosificación unitaria suficientes del anticuerpo y preferentemente también del inhibidor de HMG-CoA reductasa...

40 (a) para una única administración de anticuerpo e inhibidor de HMG-CoA reductasa, por ejemplo, que comprende una ampolla, sobre, vial, cartucho o jeringa precargada que comprende aproximadamente 50 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 450 mg o aproximadamente 500 mg de anticuerpo y preferentemente aproximadamente 150 mg de anticuerpo, aproximadamente 200 mg de anticuerpo o aproximadamente 300 mg de anticuerpo, junto con comprimido o cápsula, por ejemplo, para administración oral o peroral que comprende el inhibidor de HMG-CoA, por ejemplo, que comprende aproximadamente 10 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 40 mg o aproximadamente 80 mg del inhibidor de HMG-CoA tal como atorvastatina.

45 (b) para un tratamiento de dos semanas (es decir, 14 días) con el anticuerpo e inhibidor de HMG-CoA reductasa, por ejemplo, que comprende una ampolla, sobre, vial, cartucho o jeringa precargada que comprende aproximadamente 50 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 450 mg o aproximadamente 500 mg de anticuerpo y preferentemente aproximadamente 150 mg de anticuerpo, aproximadamente 200 mg de anticuerpo o aproximadamente 300 mg de anticuerpo; junto con unidades suficientes que comprenden de inhibidor de HMG-CoA reductasa (por ejemplo,

comprimidos o cápsulas, por ejemplo, para administración oral o peroral) para un tratamiento de 14 días, por ejemplo, 14 unidades para una pauta de administración de una vez al día de inhibidor de HMG-CoA reductasa o 28 unidades para una pauta de administración de dos veces al día, en el que las unidades por día de inhibidor de HMG-CoA comprenden preferentemente aproximadamente 10 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 40 mg o aproximadamente 80 mg del inhibidor de HMG-CoA tal como atorvastatina. En el caso de que el anticuerpo vaya a administrarse en una dosificación superior a 200 mg, pueden ser preferibles dos formas de dosificación unitaria de anticuerpo juntas que comprenden la dosis total (por ejemplo, dos jeringas precargadas que comprenden aproximadamente 150 mg de anticuerpo en 1 ml de formulación líquida cada una para una administración total (por ejemplo, inyección subcutánea) de aproximadamente 300 mg de anticuerpo en dos inyecciones) (o dos unidades con aproximadamente 100 mg cada una para una administración total de aproximadamente 200 mg de anticuerpo, dos unidades con aproximadamente 175 mg para una administración total de aproximadamente 350 de anticuerpo).

(c) para un tratamiento de cuatro semanas (es decir, 28 días) con anticuerpo e inhibidor de HMG-CoA reductasa, por ejemplo,

1. para una pauta de administración E2W del anticuerpo con aproximadamente 50 a aproximadamente 200 mg de anticuerpo durante dos semanas: que comprende dos formas de dosificación unitaria (por ejemplo, como se ejemplificó anteriormente) con cada uno de aproximadamente 50 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg o aproximadamente 200 mg de anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo junto con 28 formas de dosificación unitaria de inhibidor de HMG-CoA reductasa (como se ejemplifica anteriormente) para una pauta de administración diaria de una vez al día o junto con 56 formas de dosificación unitaria de inhibidor de HMG-CoA reductasa para una pauta de administración diaria de dos veces al día, preferentemente 28 formas de dosificación unitaria (por ejemplo, cápsulas o comprimidos) de aproximadamente 10 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 40 mg o aproximadamente 80 mg de atorvastatina

2. para una pauta de administración E4W del anticuerpo o fragmento del mismo con una administración de aproximadamente 200 mg durante cuatro semanas (28 días): por ejemplo, que comprende una forma de dosificación unitaria del anticuerpo con aproximadamente 200 mg de anticuerpo (por ejemplo, como se ejemplifica anteriormente) junto con 28 o 56, y preferentemente 28 formas de dosificación unitaria de inhibidor de HMG-CoA reductasa (por ejemplo, como se ejemplifica anteriormente)

3. para una pauta de administración E4W del anticuerpo con más de 200 mg durante cuatro semanas (28 días): que comprende dos formas de dosificación unitaria que juntas comprenden la dosis total de anticuerpo (por ejemplo, dos jeringas precargadas que comprenden cada una 1 ml de formulación líquida de anticuerpo con 150 mg de anticuerpo cada una) o que comprende una forma de dosificación unitaria que comprende la cantidad total de anticuerpo que va a administrarse (por ejemplo, un vial que comprende aproximadamente 300 mg de anticuerpo para disolución o un vial, cartucho o jeringa precargada que comprende aproximadamente 300 mg del anticuerpo en formulación líquida (es decir, aproximadamente 2 ml de formulación líquida, en el que 1 ml de formulación líquida comprende aproximadamente 150 mg del anticuerpo); junto con 28 o 56, y preferentemente 28 formas de dosificación unitaria de inhibidor de HMG-CoA reductasa (por ejemplo, como se ejemplifica anteriormente)

(d) para un tratamiento de un mes con anticuerpo e inhibidor de HMG-CoA reductasa: que comprende los mismos números de formas de dosificación unitaria de anticuerpo que se ejemplifica en (c) para una administración de una vez o dos veces por mes, por ejemplo, cada primer día del mes o cada primer lunes etc., del mes para una administración de una vez al mes, o por ejemplo, cada primero y 14º o 15º día del mes para una pauta de administración de dos veces al mes; además, el artículo de fabricación comprende 31 formas de dosificación unitaria de inhibidor de HMG-CoA reductasa, preferentemente comprimidos o cápsulas dispuestas en un envase alveolado que contiene una numeración consecutiva de 1-31 para los días del mes (en el que los comprimidos o cápsulas superfluos para el exceso de días deben ser desechados).

En un vigésimo quinto aspecto, la presente divulgación se refiere a un artículo de fabricación que comprende: (a) un material de envasado; (b) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h; y (c) una etiqueta o prospecto contenido dentro del material de envasado que indica que los pacientes que reciben tratamiento con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno pueden tratarse para una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares y adicionalmente que indica que pueden tratarse sujetos que se encuentran en uno o más grupos de sujetos como se cita en el décimo tercer aspecto.

En un vigésimo sexto aspecto, la presente divulgación se refiere a un artículo de fabricación que comprende: (a) un material de envasado; (b) un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h; y (c) una etiqueta o prospecto contenido dentro del material de envasado que indica que los pacientes que reciben tratamiento con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno pueden tratarse para una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares y adicionalmente que indica que el tratamiento de pacientes con



dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo está contraindicado para pacientes que pertenecen a uno o más grupos de sujetos como se cita en el décimo cuarto aspecto.

Anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que pueden usarse para poner en práctica los diferentes artículos de fabricación de la presente divulgación se describen en la sección "*Anticuerpos preferidos*".

- 5 En realizaciones preferidas del vigésimo cuarto, el vigésimo quinto o vigésimo sexto aspecto, la etiqueta o prospecto contiene una referencia a un método de tratamiento según el primer o los usos médicos según el segundo aspecto y las realizaciones del primero y segundo aspecto como se describe en el presente documento.

- 10 Los artículos de fabricación descritos en el 24º, el 25º o el 26º aspecto pueden comprender además una o más de las características o componentes del artículo de fabricación como está comprendido en el 3º, 4º o 5º aspecto desvelado en el presente documento y viceversa. Una realización preferida adicional de la presente divulgación combina una o más de las características del 24º y el 25º, del 25º y el 26º o del 24º y el 25º y el 26º aspecto como se describe en el presente documento.

- 15 Según un 27º aspecto, la presente divulgación se refiere a una composición farmacéutica o anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo desvelado en el presente documento, tal como según el décimo noveno aspecto desvelado en el presente documento, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección en la que la expresión o actividad de PCSK9 causa un impacto, preferentemente para su uso en la reducción de niveles elevados de C-LDL (lipoproteína C de baja densidad).

- 20 Según una realización preferida, la enfermedad o afección está seleccionada del grupo que consiste en: niveles elevados de colesterol total, niveles elevados de lipoproteína de baja densidad (C-LDL), hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia y aterosclerosis, particularmente hipercolesterolemia primaria, hipercolesterolemia familiar, o hipercolesterolemia que no es controlada por estatinas

Según otra realización preferida, la composición, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al sujeto cada dos semanas (E2W), cada cuatro semanas (E4W) o una vez al mes.

- 25 Según otra realización preferida, un inhibidor de HMG-CoA reductasa se co-administra con la composición farmacéutica, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, preferentemente un inhibidor de HMG-CoA reductasa según uno de los diferentes aspectos desvelados en el presente documento, tal como según el primer o segundo aspecto.

Según otra realización preferida, el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra una vez al día y preferentemente cada día.

- 30 En un vigésimo octavo aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de preparación de una composición farmacéutica desvelada en el presente documento, por ejemplo, según el décimo noveno aspecto, que comprende mezclar el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo y opcionalmente el inhibidor de HMG-CoA reductasa con uno o más excipientes o vehículos farmacéuticos.

- 35 En un vigésimo noveno aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de preparación de una forma de dosificación unitaria de la presente que comprende mezclar una cantidad de la composición farmacéutica, del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, de la formulación líquida o de la formulación seca desvelada en el presente documento que comprende una o más dosis del anticuerpo o fragmento de antígeno del mismo y opcionalmente del inhibidor de HMG-CoA reductasa y adaptarlos como unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para administración humana y/o animal.

- 40 En un trigésimo aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de preparación o ensamblaje de un artículo de fabricación desvelado en el presente documento que comprende envasar la composición farmacéutica, del anticuerpo según, de la formulación líquida, de la formulación seca según o una o más de las formas de dosificación unitaria desveladas en el presente documento en un recipiente, opcionalmente junto con una o más de los siguientes: una etiqueta, instrucciones para su uso, un dispositivo de administración.

- 45 En un trigésimo primer aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de prueba de la eficacia de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h para el tratamiento de una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en niveles elevados de C-LDL, hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares, o cualquier otra enfermedad o afección descrita en el primer o segundo aspecto, comprendiendo dicho método:

- 50 tratar una población de pacientes seleccionada con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, en el que cada paciente en dicha población tiene un nivel de colesterol de (C-LDL) superior a 100 mg/dl; y

determinar la eficacia de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo determinando el nivel de C-LDL en la población de pacientes antes y después de la administración de dicho anticuerpo o fragmento de

unión al antígeno del mismo, en el que una reducción del nivel de C-LDL de al menos el 25 % con respecto a un nivel predosis en al menos el 75 % de la población de pacientes indica que dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es eficaz para el tratamiento de dicha enfermedad o afección en dicha población de pacientes;

5 en el que cada paciente se clasifica en uno o más grupos de sujetos como se cita en el décimo tercer aspecto.

En un trigésimo segundo aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de prueba de la eficacia de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h para el tratamiento de una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en niveles elevados de C-LDL, hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares (o cualquier otro método como se describe en el primer o segundo aspecto), comprendiendo dicho método:

10 determinar la eficacia de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se ha usado para el tratamiento de una población de pacientes seleccionada con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, en el que cada paciente en dicha población tiene un nivel de colesterol de LDL superior a 100 mg/dl determinando el nivel de C-LDL en la población de pacientes antes y después de la administración de dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, en el que una reducción del nivel de C-LDL de al menos el 25 % con respecto a un nivel predosis en al menos el 75 % de la población de pacientes indica que dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es eficaz para el tratamiento de dicha enfermedad o afección en dicha población de pacientes;

en el que cada paciente se clasifica en uno o más grupos de sujetos como se cita en el décimo tercer aspecto.

20 En realizaciones preferidas del 31º o 32º aspecto, cada paciente en dicha población ha recibido un tratamiento hipolipemiente por administración de un inhibidor de HMG-CoA reductasa tal como una estatina durante al menos 6 semanas antes del tratamiento con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo.

25 Anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que pueden usarse para poner en práctica el décimo noveno y vigésimo aspecto de la presente divulgación se describen en la sección "*Anticuerpos preferidos*" u otra sección de la presente solicitud que describe anticuerpos desvelados en el presente documento, tal como por ejemplo, el décimo quinto aspecto.

En realizaciones preferidas del 31º o 32º aspecto, la población de pacientes seleccionada es o ha sido tratada con un método de tratamiento según el primer o segundo aspecto y las realizaciones del primer o segundo aspecto como se describe en el presente documento.

30 En realizaciones preferidas adicionales del 31º o 32º aspecto, la eficacia de dicho anticuerpo o dicho fragmento de unión al antígeno del mismo se determina para subgrupos de dicha población de pacientes seleccionada, en el que dichos subgrupos han sido estratificados a partir de al menos un factor de estratificación seleccionado del grupo que consiste en: población con hipercolesterolemia familiar heterocigótica (heFH); historia previa de infarto de miocardio (MI); historia previa de accidente cerebrovascular; que recibe terapia de estatinas de alta intensidad; y región geográfica del paciente (por ejemplo, América del Norte, Europa occidental, Europa del este y el resto del mundo).

35 En hámsteres y otros roedores, las estatinas no son eficaces en la eliminación de LDL de la sangre. Más específicamente, la administración de estatinas sola (por ejemplo, atorvastatina) no tiene efecto sobre la expresión del receptor de LDL (LDLR) en hámsteres u otros roedores, supuestamente debido a la actividad de PCSK9 endógeno. Los experimentos contenidos en la presente solicitud (véase el estudio 4) muestran que la inhibición de PCSK9 por administración de un anticuerpo anti-PCSK9 convierte los roedores (por ejemplo, hámsteres) en sensibles al tratamiento con estatinas. Por consiguiente, la presente solicitud proporciona un nuevo modelo animal para probar la eficacia de estatinas u otros fármacos que reducen los niveles de colesterol.

Así, en un trigésimo tercer aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de prueba de la eficacia de un compuesto en reducir los niveles de colesterol en un sujeto, que comprende las etapas:

- 45 (a) proporcionar un roedor;
- (b) administrar un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9 al roedor;
- (c) administrar un compuesto de prueba a dicho roedor;
- 50 (d) determinar el efecto del compuesto de prueba en el roedor, en el que una reducción del nivel de colesterol en el roedor en comparación con el nivel de colesterol de un animal de control indica que el compuesto de prueba es eficaz en reducir los niveles de colesterol en un sujeto, en el que el animal de control es de la misma especie que dicho roedor, y en el que el animal de control no ha sido expuesto al compuesto de prueba.

En realizaciones preferidas del trigésimo tercer aspecto, el roedor está seleccionado del grupo que consiste en hámster, ratón, rata, cobaya y conejo.

- Anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que pueden usarse para poner en práctica el vigésimo primer aspecto de la presente divulgación se describen en las otras secciones de la presente solicitud tales como el décimo quinto aspecto en la sección "*Anticuerpos preferidos*". Preferentemente, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al roedor en una concentración de 1 mg/kg de peso corporal, 3 mg/kg de peso corporal, o 10 mg/kg de peso corporal.
- En realizaciones preferidas del 33º aspecto, la reducción del nivel de colesterol se determina midiendo el nivel de colesterol total en el suero. En realizaciones más preferidas, la reducción del nivel de colesterol se determina midiendo el nivel de colesterol de LDL (C-LDL) en el suero.
- En realizaciones preferidas del 33º aspecto, el animal de control es de la misma cepa que el roedor. Preferentemente, el mismo anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al roedor y al animal de control. Preferentemente, la misma concentración (medida en mg/kg de peso corporal) del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al roedor y al animal de control.
- En una realización del 33º aspecto, el animal de control es un animal diferente, es decir, un individuo diferente, del roedor. También es posible determinar el nivel de colesterol en dos o más animales de control y calcular el valor medio del nivel de colesterol en estos dos o más animales de control. Asimismo, es posible exponer dos o más roedores al anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, para determinar el nivel de colesterol en estos dos o más roedores y para calcular el valor medio del nivel de colesterol en estos dos o más roedores.
- En una realización alternativa del 33º aspecto, el animal de control es el mismo animal que el roedor pero se examina en un momento diferente. Más específicamente, el nivel de colesterol en el roedor después de la administración del compuesto de prueba puede compararse con un nivel de colesterol pre-dosis en el mismo animal. Preferentemente, dicho nivel de colesterol pre-dosis se determina entre las etapas (b) y (c) citadas anteriormente.
- Según el trigésimo cuarto aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de potenciamiento de la actividad de reducción de C-LDL en un sujeto que recibe la terapia de estatinas, comprendiendo el método administrar al sujeto un anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, que se une específicamente a proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana (PCSK9h), en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra en una cantidad de dosis dentro del intervalo de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg, potenciando así la actividad reductora de C-LCL de la terapia de estatinas en el sujeto.
- Según una realización preferida del 34º aspecto, el sujeto es resistente a la terapia de estatinas antes de la administración del anticuerpo.
- Según otra realización preferida, el sujeto padece una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia y aterosclerosis.
- Según otra realización preferida, la patología es hipercolesterolemia primaria o hipercolesterolemia familiar.
- Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra en una cantidad de dosis dentro del intervalo de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 300 mg.
- Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra en una cantidad de dosis de aproximadamente 150 mg.
- Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al sujeto cada dos semanas (E2W).
- Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al sujeto cada cuatro semanas (E4W).
- Según otra realización preferida, el tratamiento reduce el colesterol total en suero al menos aproximadamente el 25 % a aproximadamente el 35 % con respecto a un nivel predosis y mantiene la reducción durante al menos un periodo de 24 días.
- Según otra realización preferida, el tratamiento reduce el colesterol total en suero al menos aproximadamente el 65 % a aproximadamente el 80 % con respecto a un nivel predosis y mantiene la reducción durante al menos un periodo de 24 días.
- Según otra realización preferida, el tratamiento reduce los niveles de triglicéridos en suero de al menos aproximadamente el 25 % a aproximadamente el 40 % con respecto a un nivel predosis.
- Según otra realización preferida, el tratamiento redujo el colesterol de HDL en suero no más del 5 % con respecto a un nivel predosis.
- Según otra realización preferida, el tratamiento tiene poco efecto o no medible sobre la función hepática, como se ha determinado por mediciones de ALT y AST.

Según otra realización preferida, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno comprende las CDRs de la cadena pesada y ligera de un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92.

5 Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92.

Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo compite por unirse a PCSK9h con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92.

10 Según otra realización preferida, la estatina está seleccionada del grupo que consiste en cerivastatina, atorvastatina, simvastatina, pitavastatina, rosuvastatina, fluvastatina, lovastatina y pravastatina.

Según otra realización preferida, la estatina es atorvastatina administrada a una dosis de 10 mg, 20 mg, 40 mg u 80 mg.

15 En un trigésimo quinto aspecto, la presente divulgación se refiere a un kit para tratar niveles elevados de colesterol de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) en un sujeto, comprendiendo el kit (a) forma farmacéutica de dosificación unitaria que comprende un anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, que se une específicamente a PCSK9h; y vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno está presente en una cantidad de dosis dentro del intervalo de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg; y (b) una etiqueta o prospecto con instrucciones para su uso.

20 Según una realización preferida del 35º aspecto, la etiqueta indica que los pacientes que reciben tratamiento con dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno pueden tratarse para una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia y aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares.

25 Según otra realización preferida, la enfermedad o afección es hipercolesterolemia primaria o hipercolesterolemia familiar. Según otra realización preferida, la enfermedad o afección es hipercolesterolemia que no es controlada por estatinas.

Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno está presente en una cantidad de dosis dentro del intervalo de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 300 mg. Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno está presente en una cantidad de dosis de aproximadamente 150 mg.

30 Según otra realización preferida, la etiqueta o prospecto indica que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al sujeto cada dos semanas (E2W).

Según otra realización preferida, la etiqueta o prospecto indica que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al sujeto cada cuatro semanas (E4W).

35 Según otra realización preferida, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno comprende las CDRs de la cadena pesada y ligera de un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92

Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92.

40 Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo compite por unirse a PCSK9h con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92.

45 Según otra realización preferida, el kit comprende además un inhibidor de HMG-CoA reductasa. Según otra realización preferida, el inhibidor está en una cantidad de dosis en el intervalo de aproximadamente 0,05 mg a 100 mg. Según otra realización preferida, el inhibidor de HMG-CoA reductasa es una estatina. Según otra realización preferida, la estatina está seleccionada del grupo que consiste en cerivastatina, atorvastatina, simvastatina, pitavastatina, rosuvastatina, fluvastatina, lovastatina y pravastatina.

Según otra realización preferida, las instrucciones indican que la estatina es atorvastatina administrada a una dosis de 10 mg, 20 mg, 40 mg u 80 mg.

Según otra realización preferida, las instrucciones indican que el tratamiento con el anticuerpo o un está contraindicado para pacientes que pertenecen a uno o más de los siguientes grupos:

- 50 (i) fumadores;  
(ii) personas de 70 años o mayores;

- (iii) personas que padecen hipertensión;
- (iv) mujeres que están embarazadas;
- (v) mujeres que están intentando quedarse embarazadas;
- (vi) mujeres que están dando de mamar;
- 5 (vii) personas que tienen o han tenido alguna vez una enfermedad que afecta al hígado;
- (viii) personas que tuvieron algún análisis de sangre anormal inexplicado para la función hepática;
- (ix) personas que beben excesivas cantidades de alcohol;
- (x) personas que tienen problemas de riñón;
- (xi) personas que padecen hipotiroidismo;
- 10 (xii) personas que padecen trastornos musculares;
- (xiii) personas que han tenido problemas musculares previos durante el tratamiento con medicina hipolipemiente;
- (xiv) personas que tienen graves problemas con su respiración;
- 15 (xv) personas que toman una o más de las siguientes medicinas: medicinas que alteran la forma en la que trabajan los sistemas inmunitarios (por ejemplo, ciclosporina o antihistamínicos), antibióticos o medicinas antifúngicas (por ejemplo, eritromicina, claritromicina, ketoconazol, itraconazol, rifampicina, ácido fusídico), medicinas que regulan los niveles de lípidos (por ejemplo, gemfibrozilo, colestipol), bloqueantes de los canales de calcio (por ejemplo, verapamilo, diltiazem), medicinas que regulan el ritmo cardíaco (digoxina, amiodarona), inhibidores de la proteasa usados en el tratamiento de VIH (por ejemplo, nelfinavir), warfarina, anticonceptivos orales, antiácidos o hierba de san Juan; o
- 20 (xvi) personas que beben más de 0,1 l de zumo de pomelo al día;
- (xvii) personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) superior a 40;
- (xviii) personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) inferior a 18;
- (xix) personas que padecen diabetes de tipo 1 o diabetes de tipo 2;
- 25 (xx) personas positivas para hepatitis B o hepatitis C; o
- (xxi) personas que tienen una sensibilidad conocida a fármacos terapéuticos de anticuerpos monoclonales.

En un trigésimo sexto aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de tratamiento de un sujeto que padece una enfermedad o trastorno caracterizado por niveles elevados de colesterol de lipoproteína de baja densidad (C-LDL), comprendiendo el método:

- 30 (a) seleccionar un sujeto con un nivel de C-LDL en sangre superior a 100 mg/dl; y
- (b) administrar a dicho sujeto una composición que comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana (PCSK9h); reduciéndose así los niveles de colesterol en el sujeto en necesidad del mismo.

35 Según una realización preferida, la enfermedad o afección está seleccionada del grupo que consiste en: hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia y aterosclerosis.

Según otra realización preferida, la patología es hipercolesterolemia primaria o hipercolesterolemia familiar.

Según otra realización preferida, la enfermedad o afección es hipercolesterolemia que no es controlada por estatinas.

40 Según otra realización preferida, el sujeto tiene un índice de masa corporal (IMC) inferior a 18 kg/m<sup>2</sup> o superior a 40 kg/m<sup>2</sup>.

Según otra realización preferida, el sujeto no fue previamente informado para participar en una dieta hipocolesterolémica.

Según otra realización preferida, el sujeto no ha tomado previamente un fármaco hipocolesterolémico excepto atorvastatina.

Según otra realización preferida, la atorvastatina se administró a aproximadamente 10 mg por día.

Según otra realización preferida, el fármaco hipocolesterolemizante está seleccionado del grupo que consiste en fibratos, resinas de ácidos biliares, niacina, bloqueantes de la absorción de colesterol intestinal (ICA) y ácidos grasos omega-3. Según otra realización preferida, la niacina se administra a más de 500 mg por día. Según otra realización preferida, los ácidos grasos omega-3 se administran a más de 1000 mg por día.

5

Según otra realización preferida, el sujeto no padece diabetes. Según otra realización preferida, la diabetes es diabetes de tipo 1. Según otra realización preferida, la diabetes es diabetes de tipo 2. Según otra realización preferida, la diabetes de tipo 2 se trata con insulina.

Según otra realización preferida, el sujeto tiene una concentración de hemoglobina glicosilada en sangre superior o igual al 8,5 %.

10

Según otra realización preferida, el sujeto es negativo para hepatitis B y antígeno de superficie C.

Según otra realización preferida, el sujeto tiene una concentración de triglicéridos en sangre superior a 350 mg/dl.

Según otra realización preferida, el sujeto tiene menos de 1500 neutrófilos por mm cúbico de sangre.

Según otra realización preferida, el sujeto tiene menos de 100.000 plaquetas por mm cúbico de sangre.

15

Según otra realización preferida, el sujeto es una hembra.

Según otra realización preferida, el sujeto no está embarazada.

Según otra realización preferida, el sujeto tiene una concentración de hormona estimulante tiroidea en sangre que está por encima del límite inferior de la normalidad y por debajo del límite superior de la normalidad.

Según otra realización preferida, el sujeto tiene creatina en suero inferior a 1,4 del límite superior de la normalidad.

20

Según otra realización preferida, el sujeto es un varón.

Según otra realización preferida, el sujeto tiene creatina en suero inferior a 1,5 del límite superior de la normalidad.

Según otra realización preferida, el sujeto tiene una cantidad de aspartato transaminasa que es inferior a dos veces el límite superior de la normalidad.

25

Según otra realización preferida, el sujeto tiene una cantidad de alanina transaminasa que es inferior a dos veces el límite superior de la normalidad.

Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra en una cantidad de dosis dentro del intervalo de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg.

Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra en una cantidad de dosis dentro del intervalo de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 300 mg.

30

Según otra realización preferida, el anticuerpo se administra a entre 200 y 300 mg cada cuatro semanas.

Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra en una cantidad de dosis de aproximadamente 150 mg.

Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al sujeto cada dos semanas (E2W).

35

Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al sujeto cada cuatro semanas (E4W).

Según otra realización preferida, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno comprende las CDRs de la cadena pesada y ligera de un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92.

40

Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92.

Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo compite por unirse a PCSK9h con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92. Según otra realización preferida, el anticuerpo se administra por vía subcutánea. Según otra realización preferida, el anticuerpo se administra en el abdomen.

45

Según otra realización preferida, un inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra al sujeto.

Según otra realización preferida, el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra en una cantidad de dosis en el intervalo de aproximadamente 0,05 mg a 100 mg.

Según otra realización preferida, el inhibidor de HMG-CoA reductasa es una estatina.

- 5 Según otra realización preferida, la estatina está seleccionada del grupo que consiste en cerivastatina, atorvastatina, simvastatina, pitavastatina, rosuvastatina, fluvastatina, lovastatina y pravastatina.

Según otra realización preferida, la estatina es atorvastatina administrada a una dosis de 10 mg u 80 mg.

Según otra realización preferida, la atorvastatina se administra a aproximadamente 10 mg por día y a 80 mg un día en un periodo de 8 semanas.

- 10 En un trigésimo séptimo aspecto, la presente divulgación se refiere a un método de reducción de los niveles de colesterol en un sujeto en necesidad del mismo, que comprende:

(a) seleccionar un sujeto con un nivel de colesterol de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) en sangre superior a 100 mg/dl; y

- 15 (b) administrar a dicho sujeto una composición que comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana (PCSK9h); reduciéndose así los niveles de colesterol en el sujeto en necesidad del mismo.

Según una realización preferida del 37º aspecto, la enfermedad o afección está seleccionada del grupo que consiste en: hipercolesterolemia, hiperlipidemia, dislipidemia y aterosclerosis.

Según otra realización preferida, la patología es hipercolesterolemia primaria o hipercolesterolemia familiar.

- 20 Según otra realización preferida, la enfermedad o afección es hipercolesterolemia que no es controlada por estatinas.

Según otra realización preferida, el sujeto tiene un índice de masa corporal (IMC) inferior a 18 kg/m<sup>2</sup> o superior a 40 kg/m<sup>2</sup>.

- 25 Según otra realización preferida, el sujeto no fue previamente informado para participar en una dieta hipocolesterolemizante.

Según otra realización preferida, el sujeto no ha tomado previamente un fármaco hipocolesterolemizante excepto atorvastatina.

Según otra realización preferida, la atorvastatina se administró a aproximadamente 10 mg por día.

- 30 Según otra realización preferida, el fármaco hipocolesterolemizante está seleccionado del grupo que consiste en fibratos, resinas de ácidos biliares, niacina, bloqueantes de la absorción de colesterol intestinal (ICA) y ácidos grasos omega-3.

Según otra realización preferida, la niacina se administra a más de 500 mg por día.

Según otra realización preferida, los ácidos grasos omega-3 se administran a más de 1000 mg por día.

Según otra realización preferida, el sujeto no padece diabetes.

- 35 Según otra realización preferida, la diabetes es diabetes de tipo 1.

Según otra realización preferida, la diabetes es diabetes de tipo 2.

Según otra realización preferida, la diabetes de tipo 2 se trata con insulina.

Según otra realización preferida, el sujeto tiene una concentración de hemoglobina glicosilada en sangre superior o igual al 8,5 %.

- 40 Según otra realización preferida, el sujeto es negativo para hepatitis B y antígeno de superficie C.

Según otra realización preferida, el sujeto tiene una concentración de triglicéridos en sangre superior a 350 mg/dl.

Según otra realización preferida, el sujeto tiene menos de 1500 neutrófilos por mm cúbico de sangre.

Según otra realización preferida, el sujeto tiene menos de 100.000 plaquetas por mm cúbico de sangre.

Según otra realización preferida, el sujeto es una hembra.

Según otra realización preferida, el sujeto no está embarazada.

Según otra realización preferida, el sujeto tiene una concentración de hormona estimulante tiroidea en sangre que está por encima del límite inferior de la normalidad y por debajo del límite superior de la normalidad.

- 5 Según otra realización preferida, el sujeto tiene creatina en suero inferior a 1,4 del límite superior de la normalidad.

Según otra realización preferida, el sujeto es un varón.

Según otra realización preferida, el sujeto tiene creatina en suero inferior a 1,5 del límite superior de la normalidad.

Según otra realización preferida, el sujeto tiene una cantidad de aspartato transaminasa que es inferior a dos veces el límite superior de la normalidad.

- 10 Según otra realización preferida, el sujeto tiene una cantidad de alanina transaminasa que es inferior a dos veces el límite superior de la normalidad.

Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra en una cantidad de dosis dentro del intervalo de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg.

- 15 Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra en una cantidad de dosis dentro del intervalo de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 300 mg.

Según otra realización preferida, el anticuerpo se administra a entre 200 y 300 mg cada cuatro semanas.

Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se administra en una cantidad de dosis de aproximadamente 150 mg.

- 20 Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al sujeto cada dos semanas (E2W).

Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al sujeto cada cuatro semanas (E4W).

- 25 Según otra realización preferida, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno comprende las CDRs de la cadena pesada y ligera de un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92. Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92. Según otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo compete por unirse a PCSK9h con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92. Según otra realización preferida, el anticuerpo se administra por vía subcutánea.
- 30 Según otra realización preferida, el anticuerpo se administra en el abdomen.

- 35 Según otra realización preferida, el método comprende además administrar un inhibidor de HMG-CoA reductasa al sujeto. Según otra realización preferida, el inhibidor de HMG-CoA reductasa se administra en una cantidad de dosis en el intervalo de aproximadamente 0,05 mg a 100 mg. Según otra realización preferida, el inhibidor de HMG-CoA reductasa es una estatina. Según otra realización preferida, la estatina está seleccionada del grupo que consiste en cerivastatina, atorvastatina, simvastatina, pitavastatina, rosuvastatina, fluvastatina, lovastatina y pravastatina. Según otra realización preferida, la estatina es atorvastatina administrada a una dosis de 10 mg, 20 mg, 40 mg u 80 mg. Según otra realización preferida, la atorvastatina se administra a aproximadamente 10 mg por día y a 80 mg un día en un periodo de 8 semanas.

- 40 Varios aspectos desvelados en el presente documento pueden combinarse entre sí. Por ejemplo, pueden combinarse el método de tratamiento de una enfermedad o afección según el primer aspecto y el método de tratamiento de una enfermedad o afección según el décimo tercer aspecto. Como resultado de esta combinación, la presente divulgación se refiere a un método de tratamiento de una enfermedad o afección que caracteriza el tratamiento de ciertos grupos de sujetos por ciertas pautas posológicas. De una manera análoga, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección según el segundo
- 45 aspecto puede combinarse con el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección según el décimo quinto aspecto. Como resultado de esta combinación, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo para su uso en el tratamiento de ciertos grupos de sujetos por ciertas pautas posológicas.

- 50 Según otro ejemplo, pueden combinarse el método de tratamiento de una enfermedad o afección según el primer aspecto y el método de tratamiento de una enfermedad o afección según el décimo cuarto aspecto. Como resultado de esta combinación, la presente divulgación se refiere a un método de tratamiento de una enfermedad o afección que excluye ciertos grupos de sujetos de un tratamiento por una cierta pauta posológica. De una manera análoga, el



anticuerpo o fragmento de unión al antígeno para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección según el segundo aspecto puede combinarse con el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección según el décimo sexto aspecto. Como resultado de esta combinación, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo para su uso en el tratamiento por una cierta pauta posológica, en el que ciertos grupos de sujetos se excluyen del tratamiento.

El experto reconocerá otras realizaciones preferidas resultantes de combinaciones adecuadas de diferentes aspectos y realizaciones desvelados en el presente documento.

Los usos farmacéuticos desvelados en el presente documento como se describe en el presente documento también se refieren a usos de un anticuerpo dado o fragmento de unión al antígeno del mismo, de la composición farmacéutica dada, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una o más de las enfermedades o afecciones como se describe en el presente documento.

#### Anticuerpos preferidos

La siguiente sección describe características funcionales y estructurales de anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que pueden usarse para poner en práctica los veintidós aspectos de la presente divulgación. Así, expresiones tales como "en realizaciones preferidas", "en algunas realizaciones", "en otra realización preferida" y expresiones similares deben entenderse como con referencia a realizaciones del primer aspecto de la presente divulgación, el segundo aspecto de la presente divulgación, el tercer aspecto de la presente divulgación, el cuarto aspecto de la presente divulgación, el quinto aspecto de la presente divulgación, el sexto aspecto de la presente divulgación, el séptimo aspecto de la presente divulgación, el octavo aspecto de la presente divulgación, el noveno aspecto de la presente divulgación, el décimo aspecto de la presente divulgación, el décimo primer aspecto de la presente divulgación, el décimo segundo aspecto de la presente divulgación, el décimo tercer aspecto de la presente divulgación, el décimo cuarto aspecto de la presente divulgación, el décimo quinto aspecto de la presente divulgación, el décimo sexto aspecto de la presente divulgación, el décimo séptimo aspecto de la presente divulgación, el décimo octavo aspecto de la presente divulgación, el décimo noveno aspecto de la presente divulgación, el vigésimo aspecto y el vigésimo primer aspecto de la presente divulgación, el vigésimo segundo aspecto de la presente divulgación, el vigésimo tercer aspecto de la presente divulgación, el vigésimo cuarto aspecto de la presente divulgación, el vigésimo quinto aspecto de la presente divulgación, el vigésimo sexto aspecto de la presente divulgación, el vigésimo séptimo aspecto de la presente divulgación, el vigésimo octavo aspecto de la presente divulgación, el vigésimo noveno aspecto de la presente divulgación, el trigésimo aspecto de la presente divulgación, el trigésimo primer aspecto de la presente divulgación, el trigésimo segundo aspecto de la presente divulgación, el trigésimo tercer aspecto de la presente divulgación, el trigésimo cuarto aspecto desvelado en el presente documento, el trigésimo quinto aspecto desvelado en el presente documento, el trigésimo sexto aspecto desvelado en el presente documento, el trigésimo séptimo aspecto desvelado en el presente documento.

Todos los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos adecuados para poner en práctica la presente invención se unen específicamente a PCSK9h. En realizaciones preferidas de cualquier aspecto de la presente divulgación, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es un anticuerpo humano recombinante o fragmento del mismo. En realizaciones más específicas, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es un anticuerpo monoclonal completamente humano o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9h y neutraliza la actividad de PCSK9.

Los mA b utilizables en la presente divulgación puede ser de longitud completa (por ejemplo, un anticuerpo IgG1 o IgG4) o pueden comprender solo una porción de unión al antígeno (por ejemplo, un fragmento Fab, F(ab')<sub>2</sub> o scFv), y pueden modificarse para afectar la funcionalidad, por ejemplo, para eliminar funciones efectoras residuales (Reddy et al. (2000) J. Immunol. 164:1925-1933).

En realizaciones preferidas, los anticuerpos desvelados en el presente documento se caracterizan por una o más de las siguientes características tras la administración a un sujeto, preferentemente un mamífero humano o no humano y más preferentemente un humano:

- reducción de los niveles de lipoproteína de baja densidad-C (C-LDL) de al menos aproximadamente el -25 % a aproximadamente el -40 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 14 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -25 % y más preferentemente al menos el -30 % con respecto a un nivel predosis, particularmente si se administra en una dosis de aproximadamente 40 a aproximadamente 60 mg, preferentemente aproximadamente 45 a aproximadamente 55 mg y más preferentemente aproximadamente 50 mg en una pauta de administración bisemanal (cada dos semanas, E2W),
- reducción de lipoproteína de baja densidad-C (C-LDL) de al menos aproximadamente el -50 % a aproximadamente el -65 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 14 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -40 % y más preferentemente al menos el -45 % con respecto a un nivel predosis, particularmente si se administra en una dosis de aproximadamente 100 mg E2W,

- reducción de lipoproteína de baja densidad-C (C-LDL) de al menos aproximadamente el -60 % a al menos aproximadamente el -75 % [por ejemplo, al menos aproximadamente el -60 %, al menos aproximadamente el -65 %, al menos aproximadamente el -70 o al menos aproximadamente el -75 %] con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 14 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -55 % y más preferentemente al menos el -60 % con respecto a un nivel predosis, particularmente cuando se administra en una dosis de aproximadamente 150 mg E2W,
- reducción de lipoproteína de baja densidad-C (C-LDL) de al menos aproximadamente el 40 % a aproximadamente el 75 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 28 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -35 % y más preferentemente al menos el -40 % con respecto a un nivel predosis, particularmente cuando se administra en una dosis de aproximadamente 200 mg E4W,
- reducción de lipoproteína de baja densidad-C (C-LDL) de al menos aproximadamente el -50 % a aproximadamente el -75 % con respecto a un nivel predosis con una reducción sostenida durante al menos un periodo de 28 días, en el que la reducción sostenida es preferentemente al menos el -40 % y más preferentemente al menos el -45 % con respecto a un nivel predosis, particularmente cuando se administra en una dosis de aproximadamente 300 mg E4W,
- aumento de los niveles de colesterol de HDL en suero de al menos el 2 %, al menos el 2,5 %, al menos el 3 %, al menos el 3,5 %, al menos el 4 %, al menos el 4,5 %, al menos el 5 % o al menos el 5,5 % con respecto a un nivel predosis, particularmente cuando se administra en una dosis de aproximadamente 150 mg E2W,
- poco efecto o no detectable sobre los niveles de troponinas,
- aumento de uno o más de: niveles de colesterol total, niveles de ApoB, niveles de C-no HDL, relación Apo-B/ApoA-1,

Los anticuerpos según la presente divulgación presentan las propiedades anteriores preferentemente si se administran en combinación con un tratamiento con inhibidor de HMG-CoA reductasa. Realizaciones preferidas de los inhibidores de HMG-CoA reductasa que van a usarse conjuntamente con el anticuerpo desvelado en el presente documento y pautas de dosificación y administración de los mismos pueden encontrarse en toda la memoria descriptiva, particularmente como se describe en los aspectos relacionados con usos médicos y métodos de tratamiento.

Según otra realización preferida de los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos desvelados en el presente documento, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo tiene una o más de las siguientes características:

- El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno comprende las CDRs de la cadena pesada y ligera de un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92.
- El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92.
- El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo compite por unirse a PCSK9h con un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90/92.

Según otra realización preferida de los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos desvelados en el presente documento, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo tiene una o más de las siguientes características:

- vence la resistencia a estatinas en mamíferos, especialmente en roedores tales como hámster
- aumento en la expresión de LDLR en mamíferos, particularmente en roedores tales como hámster
- disminuye C-LDL en suero en roedores tales como hámster
- disminución sinérgica de C-LDL conjuntamente con la administración de inhibidores de HMG-CoA reductasa, particularmente en roedores tales como hámster, en el que el inhibidor de HMG-CoA reductasa es preferentemente atorvastatina.

En realizaciones preferidas, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo se caracteriza por uno o más de los siguientes:

- (i) capaz de reducir el colesterol total en suero al menos aproximadamente del 25 a aproximadamente el 35 % y mantener la reducción durante al menos un periodo de 24 días con respecto a un nivel predosis, preferentemente la reducción en colesterol total en suero es al menos aproximadamente del 30-40 %;

(ii) capaz de reducir el colesterol de LDL en suero al menos aproximadamente el 65-80 % y mantener la reducción durante al menos un periodo de 24 días con respecto a un nivel predosis;

(iii) capaz de reducir el triglicérido en suero al menos aproximadamente el 25-40 % con respecto al nivel predosis;

5 (iv) logra uno o más de (i)-(iii) sin reducir el colesterol de HDL en suero o reducir el colesterol de HDL en suero no más del 5 % con respecto al nivel predosis;

(v) logra uno o más de (i)-(iii) con poco efecto o no medible sobre la función hepática, como se ha determinado por mediciones de ALT y AST.

10 En realizaciones preferidas, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo se caracteriza por uno o más de los siguientes:

(i) capaz de reducir colesterol de LDL en suero al menos aproximadamente el 40-70 % y mantener la reducción durante al menos un periodo de 60 o 90 días con respecto a un nivel predosis;

(ii) capaz de reducir el triglicérido en suero al menos aproximadamente el 25-40 % con respecto al nivel predosis;

15 (iii) no reduce el colesterol de HDL en suero o reduce el colesterol de HDL en suero no más del 5 % con respecto al nivel predosis.

En una realización, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo se caracteriza por unir un epítipo que comprende el resto de aminoácido 238 de PCSK9h (SEQ ID NO: 755). En una realización más específica, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno une un epítipo que comprende uno o más de los restos de aminoácidos en las posiciones 238, 153, 159 y 343 de PCSK9h (SEQ ID NO: 755). En una realización más específica, el anticuerpo o fragmento del mismo se caracteriza por unir un epítipo que no comprende un resto de aminoácido en las posiciones 192, 194, 197 y/o 237 de SEQ ID NO: 755.

25 En una realización, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo se caracteriza por unir un epítipo que comprende el resto de aminoácido 366 de PCSK9h (SEQ ID NO: 755). En una realización más específica, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno une un epítipo que comprende uno o más de los restos de aminoácidos en las posiciones 147, 366 y 380 de PCSK9h (SEQ ID NO: 755). En una realización más específica, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo se caracteriza por unir un epítipo que no comprende un resto de aminoácido en la posición 215 o 238 de SEQ ID NO: 755.

30 En una realización, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una región variable de la cadena pesada (HCVR) seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2, 18, 22, 26, 42, 46, 50, 66, 70, 74, 90, 94, 98, 114, 118, 122, 138, 142, 146, 162, 166, 170, 186, 190, 194, 210, 214, 218, 234, 238, 242, 258, 262, 266, 282, 286, 290, 306, 310, 314, 330, 334, 338, 354, 358, 362, 378, 382, 386, 402, 406, 410, 426, 430, 434, 450, 454, 458, 474, 478, 482, 498, 502, 506, 522, 526, 530, 546, 550, 554, 570, 574, 578, 594, 598, 602, 618, 622, 626, 642, 646, 650, 666, 670, 674, 690, 694, 698, 714, 718, 722, 738 y 742, o una secuencia sustancialmente similar del mismo que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia. En una realización, HCVR comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 50, 66, 70, 74, 90, 94, 122, 138, 142, 218, 234, 238, 242, 258, 262, 314, 330 y 334. En una realización más específica, HCVR comprende SEQ ID NO: 90 o 218.

40 En una realización, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende además una región variable de la cadena ligera (LCVR) seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 10, 20, 24, 34, 44, 48, 58, 68, 72, 82, 92, 96, 106, 116, 120, 130, 140, 144, 154, 164, 168, 178, 188, 192, 202, 212, 216, 226, 236, 240, 250, 260, 264, 274, 284, 288, 298, 308, 312, 322, 332, 336, 346, 356, 360, 370, 380, 384, 394, 404, 408, 418, 428, 432, 442, 452, 456, 466, 476, 480, 490, 500, 504, 514, 524, 528, 538, 548, 552, 562, 572, 576, 586, 596, 600, 610, 620, 624, 634, 644, 648, 658, 668, 672, 682, 692, 696, 706, 716, 720, 730, 740 y 744, o una secuencia sustancialmente similar del mismo que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia. En una realización, LCVR comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 58, 68, 72, 82, 92, 96, 130, 140, 144, 226, 236, 240, 250, 260, 264, 322, 332 y 336. En una realización más específica, LCVR comprende SEQ ID NO: 92 o 226.

50 En realizaciones específicas, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende un par de secuencias de HCVR y LCVR (HCVR/LCVR) seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2/10, 18/20, 22/24, 26/34, 42/44, 46/48, 50/58, 66/68, 70/72, 74/82, 90/92, 94/96, 98/106, 114/116, 118/120, 122/130, 138/140, 142/144, 146/154, 162/164, 166/168, 170/178, 186/188, 190/192, 194/202, 210/212, 214/216, 218/226, 234/236, 238/240, 242/250, 258/260, 262/264, 266/274, 282/284, 286/288, 290/298, 306/308, 310/312, 314/322, 330/332, 334/336, 338/346, 354/356, 358/360, 362/370, 378/380, 382/384, 386/394, 402/404, 406/408, 410/418, 426/428, 430/432, 434/442, 450/452, 454/456, 458/466, 474/476, 478/480, 482/490, 498/500, 502/504, 506/514, 522/524, 526/528, 530/538, 546/548, 550/552, 554/562, 570/572, 574/576, 578/586, 594/596, 598/600, 602/610, 618/620,

- 622/624, 626/634, 642/644, 646/648, 650/658, 666/668, 670/672, 674/682, 690/692, 694/696, 698/706, 714/716, 718/720, 722/730, 738/740 y 742/744. En una realización, el par de secuencias de HCVR y LCVR comprende una de SEQ ID NO: 50/58, 66/68, 70/72, 74/82, 90/92, 94/96, 122/130, 138/140, 142/144, 218/226, 234/236, 238/240, 242/250, 258/260, 262/264, 314/322, 330/332 y 334/336. En realizaciones preferidas, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una secuencia de aminoácidos de HCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90 y una secuencia de aminoácidos de LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 92. En otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una secuencia de aminoácidos de HCVR como se muestra en SEQ ID NO: 218 y una secuencia de aminoácidos de LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 226.
- En realizaciones preferidas, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende un dominio CDR3 de la cadena pesada (HCDR3) seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 8, 32, 56, 80, 104, 128, 152, 176, 200, 224, 248, 272, 296, 320, 344, 368, 392, 416, 440, 464, 488, 512, 536, 560, 584, 608, 632, 656, 680, 704 y 728, o una secuencia sustancialmente similar del mismo que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; y un dominio CDR3 de la cadena pesada (LCDR3) seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 16, 40, 64, 88, 112, 136, 160, 184, 208, 232, 256, 280, 304, 328, 352, 376, 400, 424, 448, 472, 496, 520, 544, 568, 592, 616, 640, 664, 688, 712 y 736, o secuencias sustancialmente similares del mismo que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia. En una realización, el par de secuencias de HCDR3/LCDR3 está seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 56/64, 80/88, 128/136, 224/232, 248/256 y 320/328. En realizaciones más preferidas, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende un dominio HCDR3 como se muestra en SEQ ID NO: 80 y un dominio LCDR3 como se muestra en SEQ ID NO: 88. En otra realización preferida, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende un dominio HCDR3 como se muestra en SEQ ID NO: 224 y un dominio LCDR3 como se muestra en SEQ ID NO: 232.
- En una realización adicional, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende además un dominio CDR1 de la cadena pesada (HCDR1) seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 4, 28, 52, 76, 100, 124, 148, 172, 196, 220, 244, 268, 292, 316, 340, 364, 388, 412, 436, 460, 484, 508, 532, 556, 580, 604, 628, 652, 676, 700 y 724, o una secuencia sustancialmente similar del mismo que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; un dominio CDR2 de la cadena pesada (HCDR2) seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 6, 30, 54, 78, 102, 126, 150, 174, 198, 222, 246, 270, 294, 318, 342, 366, 390, 414, 438, 462, 486, 510, 534, 558, 582, 606, 630, 654, 678, 702 y 726, o una secuencia sustancialmente similar del mismo que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; un dominio CDR1 de la cadena ligera (LCDR1) seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 12, 36, 60, 84, 108, 132, 156, 180, 204, 228, 252, 276, 300, 324, 348, 372, 396, 420, 444, 468, 492, 516, 540, 564, 588, 612, 636, 660, 684, 708 y 732, o una secuencia sustancialmente similar del mismo que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; y un dominio CDR2 de la cadena ligera (LCDR2) seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 14, 38, 62, 86, 110, 134, 158, 182, 206, 230, 254, 278, 302, 326, 350, 374, 398, 422, 446, 470, 494, 518, 542, 566, 590, 614, 638, 662, 686, 710 y 734, o una secuencia sustancialmente similar del mismo que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia. En una realización, las secuencias de CDR de la cadena pesada y ligera comprenden una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 52, 54, 56, 60, 62, 64; 76, 78, 80, 84, 86, 88; 124, 126, 128, 132, 134, 136; 220, 222, 224, 228, 230, 232; 244, 246, 248, 252, 254, 256; y 316, 318, 320, 324, 326, 328. En realizaciones más específicas, las secuencias de CDR comprenden SEQ ID NO: 76, 78, 80, 84, 86, 88; o 220, 222, 224, 228, 230, 232. En realizaciones preferidas, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende secuencias de aminoácidos de CDR de la cadena pesada y ligera como se muestra en SEQ ID NO: 76, 78, 80, 84, 86 y 88. En otra realización preferida, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende secuencias de aminoácidos de CDR de la cadena pesada y ligera como se muestra en SEQ ID NO: 220, 222, 224, 228, 230 y 232.
- En una realización relacionada, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende dominios CDR de la cadena pesada y ligera contenidos dentro de pares de secuencias de la cadena pesada y ligera seleccionados del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2/10, 18/20, 22/24, 26/34, 42/44, 46/48, 50/58, 66/68, 70/72, 74/82, 90/92, 94/96, 98/106, 114/116, 118/120, 122/130, 138/140, 142/144, 146/154, 162/164, 166/168, 170/178, 186/188, 190/192, 194/202, 210/212, 214/216, 218/226, 234/236, 238/240, 242/250, 258/260, 262/264, 266/274, 282/284, 286/288, 290/298, 306/308, 310/312, 314/322, 330/332, 334/336, 338/346, 354/356, 358/360, 362/370, 378/380, 382/384, 386/394, 402/404, 406/408, 410/418, 426/428, 430/432, 434/442, 450/452, 454/456, 458/466, 474/476, 478/480, 482/490, 498/500, 502/504, 506/514, 522/524, 526/528, 530/538, 546/548, 550/552, 554/562, 570/572, 574/576, 578/586, 594/596, 598/600, 602/610, 618/620, 622/624, 626/634, 642/644, 646/648, 650/658, 666/668, 670/672, 674/682, 690/692, 694/696, 698/706, 714/716, 718/720, 722/730, 738/740 y 742/744. En una realización, las secuencias de CDR están contenidas dentro de HCVR y LCVR seleccionadas de los pares de secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 50/58, 66/68, 70/72, 74/82, 90/92, 94/96, 122/130, 138/140, 142/144, 218/226, 234/236, 238/240, 242/250, 258/260, 262/264, 314/322, 330/332 y 334/336. En realizaciones más específicas, las secuencias de CDR están comprendidas dentro de secuencias de HCVR/LCVR seleccionadas de SEQ ID NO: 90/92 o 218/226. En realizaciones preferidas, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las CDRs de la cadena pesada y ligera de un par de secuencia de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en

SEQ ID NO: 90/92. En otra realización preferida, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las CDRs de la cadena pesada y ligera de un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 218/226.

5 En una realización específica, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende la región variable de la cadena pesada (HCVR) de SEQ ID NO: 90 o una secuencia sustancialmente similar de la misma que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia.

En una realización específica, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende además la región variable de la cadena ligera (LCVR) de SEQ ID NO: 92 o una secuencia sustancialmente similar de la misma que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia.

10 En realizaciones específicas, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende la secuencia de aminoácidos de HCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90 y una secuencia de aminoácidos de LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 92.

15 En realizaciones específicas, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende un dominio CDR3 de la cadena pesada (HCDR3) de SEQ ID NO: 80 o una secuencia sustancialmente similar del mismo que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; y/o un dominio CDR3 de la cadena pesada (LCDR3) de SEQ ID NO: 88, o secuencias sustancialmente similares del mismo, que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia. En una realización, el par de secuencias de HCDR3/LCDR3 es SEQ ID NO: 80/88. En realizaciones más preferidas, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende un dominio HCDR3 como se muestra en SEQ ID NO: 80 y un dominio LCDR3 como se muestra en SEQ ID NO: 88.

20 En una realización adicional específica, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende además el dominio CDR1 de la cadena pesada (HCDR1) de SEQ ID NO: 76, o una secuencia sustancialmente similar del mismo que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; y/o el dominio CDR2 de la cadena pesada (HCDR2) de SEQ ID NO: 78 o una secuencia sustancialmente similar del mismo que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; y/o un dominio CDR1 de la cadena ligera (LCDR1) de SEQ ID NO: 84 o una secuencia sustancialmente similar del mismo que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia; y/o un dominio CDR2 de la cadena ligera (LCDR2) de SEQ ID NO: 86, o una secuencia sustancialmente similar del mismo que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad de secuencia. En una realización, las secuencias de CDR de la cadena pesada y ligera comprenden una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 76, 78, 80, 84, 86, 88. En realizaciones preferidas, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende secuencias de aminoácidos de CDR de la cadena pesada y ligera como se muestra en SEQ ID NO: 76, 78, 80, 84, 86 y 88.

35 En otra realización específica, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende dominios CDR de la cadena pesada y ligera contenidos dentro del par de secuencias de la cadena pesada y ligera de SEQ ID NO: 90/92.

40 Una realización particularmente preferida se refiere a un anticuerpo que comprende secuencias de HCVR/LCVR SEQ ID NO: 90/92 y/o secuencias de CDR SEQ ID NO: 76, 78, 80 y/o secuencias de CDR SEQ ID NO: 84, 86, 88. Otra realización particularmente preferida se refiere a un anticuerpo que comprende las secuencias de HCVR/LCVR SEQ ID NO: 90/92 y las secuencias de CDR SEQ ID NO: 76, 78, 80 y las secuencias de CDR SEQ ID NO: 84, 86, 88 ("316P").

45 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una HCVR codificada por una secuencia de ácidos nucleicos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, 17, 21, 25, 41, 45, 49, 65, 69, 73, 89, 93, 97, 113, 117, 121, 137, 141, 145, 161, 165, 169, 185, 189, 193, 209, 213, 217, 233, 237, 241, 257, 261, 265, 281, 285, 289, 305, 309, 313, 329, 333, 337, 353, 357, 361, 377, 381, 385, 401, 405, 409, 425, 429, 433, 449, 453, 457, 473, 477, 481, 497, 501, 505, 521, 525, 529, 545, 549, 553, 569, 573, 577, 593, 597, 601, 617, 621, 625, 641, 645, 649, 665, 669, 673, 689, 693, 697, 713, 717, 721, 737 y 741, o una secuencia sustancialmente idéntica que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 %, o al menos 99 % de identidad de secuencia del mismo. En una realización, HCVR está codificado por una secuencia de ácidos nucleicos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 49, 65, 69, 73, 89, 93, 121, 137, 141, 217, 233, 237, 241, 257, 261, 313, 329 y 333. En realizaciones más específicas, HCVR está codificada por una secuencia de ácidos nucleicos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 89 y 217.

50 En una realización, el anticuerpo o fragmento del mismo comprende además una LCVR codificada por una secuencia de ácidos nucleicos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 9, 19, 23, 33, 43, 47, 57, 67, 71, 81, 91, 95, 105, 115, 119, 129, 139, 143, 153, 163, 167, 177, 187, 191, 201, 211, 215, 225, 235, 239, 249, 259, 263, 273, 283, 287, 297, 307, 311, 321, 331, 335, 345, 355, 359, 369, 379, 383, 393, 403, 407, 417, 427, 431, 441, 451, 455, 465, 475, 479, 489, 499, 503, 513, 523, 527, 537, 547, 551, 561, 571, 575, 585, 595, 599, 609, 619, 623, 633, 643, 647, 657, 667, 671, 681, 691, 695, 705, 715, 719, 729, 739 y 743, o una secuencia sustancialmente idéntica

que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 %, o al menos 99 % de identidad de secuencia del mismo. En una realización, la LCVR está codificada por una secuencia de ácidos nucleicos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 57, 67, 71, 81, 91, 95, 129, 139, 143, 225, 235, 239, 249, 259, 263, 321, 331 y 335. En realizaciones más específicas, la LCVR está codificada por una secuencia de ácidos nucleicos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 91 y 225.

En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende un dominio HCDR3 codificado por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 7, 31, 55, 79, 103, 127, 151, 175, 199, 223, 247, 271, 295, 319, 343, 367, 391, 415, 439, 463, 487, 511, 535, 559, 583, 607, 631, 655, 679, 703 y 727, o una secuencia sustancialmente idéntica que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 %, o al menos 99 % de identidad de secuencia del mismo; y un dominio LCDR3 codificado por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 15, 39, 63, 87, 111, 135, 159, 183, 207, 231, 255, 279, 303, 327, 351, 375, 399, 423, 447, 471, 495, 519, 543, 567, 591, 615, 639, 663, 687, 711 y 735, o una secuencia sustancialmente idéntica que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 %, o al menos 99 % de identidad de secuencia del mismo. En una realización, HCDR3 y LCDR3 comprenden un par de secuencias codificado por la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 55/63, 79/87, 127/135, 223/231, 247/255 y 319/327, respectivamente. En realizaciones más específicas, HCDR3 y LCDR3 comprenden un par de secuencias codificado por la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 79/87 y 223/231.

En una realización adicional, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende además: un dominio HCDR1 codificado por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 3, 27, 51, 75, 99, 123, 147, 171, 195, 219, 243, 267, 291, 315, 339, 363, 387, 411, 435, 459, 483, 507, 531, 555, 579, 603, 627, 651, 675, 699 y 723, o una secuencia sustancialmente idéntica que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 %, o al menos 99 % de identidad de secuencia del mismo; un dominio HCDR2 codificado por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 5, 29, 53, 77, 101, 125, 149, 173, 197, 221, 245, 269, 293, 317, 341, 365, 389, 413, 437, 461, 485, 509, 533, 557, 581, 605, 629, 653, 677, 701 y 725, o una secuencia sustancialmente idéntica que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 %, o al menos 99 % de identidad de secuencia del mismo; un dominio LCDR1 codificado por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 11, 35, 59, 83, 107, 131, 155, 179, 203, 227, 251, 275, 299, 323, 347, 371, 395, 419, 443, 467, 491, 515, 539, 563, 587, 611, 635, 659, 683, 707 y 731, o una secuencia sustancialmente idéntica que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 %, o al menos 99 % de identidad de secuencia del mismo; y un dominio LCDR2 codificado por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 13, 37, 61, 85, 109, 133, 157, 181, 205, 229, 253, 277, 301, 325, 349, 373, 397, 421, 445, 469, 493, 517, 541, 565, 589, 613, 637, 661, 685, 709 y 733, o una secuencia sustancialmente idéntica que tiene al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 %, o al menos 99 % de identidad de secuencia del mismo. En una realización, las secuencias de CDR de la cadena pesada y ligera están codificadas por las secuencias de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 51, 53, 55, 59, 61, 63; 75, 77, 79, 83, 85, 87; 123, 125, 127, 131, 133, 135; 219, 221, 223, 227, 229, 231; 243, 245, 247, 251, 253, 255; y 315, 317, 319, 323, 325, 327. En realizaciones más específicas, las secuencias de CDR de la cadena pesada y ligera están codificadas por las secuencias de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 75, 77, 79, 83, 85, 87; y 219, 221, 223, 227, 229, 231.

En una realización adicional, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende un HCDR3 y un LCDR3, en el que HCDR3 comprende una secuencia de aminoácidos de fórmula  $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8 - X^9 - X^{10} - X^{11} - X^{12} - X^{13} - X^{14} - X^{15} - X^{16} - X^{17} - X^{18} - X^{19} - X^{20}$  (SEQ ID NO: 747), en la que  $X^1$  es Ala,  $X^2$  es Arg o Lys,  $X^3$  es Asp,  $X^4$  es Ser o Ile,  $X^5$  es Asn o Val,  $X^6$  es Leu o Trp,  $X^7$  es Gly o Met,  $X^8$  es Asn o Val,  $X^9$  es Phe o Tyr,  $X^{10}$  es Asp,  $X^{11}$  es Leu o Met,  $X^{12}$  es Asp o está ausente,  $X^{13}$  es Tyr o está ausente,  $X^{14}$  es Tyr o está ausente,  $X^{15}$  es Tyr o está ausente,  $X^{16}$  es Tyr o está ausente,  $X^{17}$  es Gly o está ausente,  $X^{18}$  es Met o está ausente,  $X^{19}$  es Asp o está ausente y  $X^{20}$  es Val o está ausente; y LCDR3 comprende una secuencia de aminoácidos de fórmula  $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8 - X^9$  (SEQ ID NO: 750), en la que  $X^1$  es Gln o Met,  $X^2$  es Gln,  $X^3$  es Tyr o Thr,  $X^4$  es Tyr o Leu,  $X^5$  es Thr o Gln,  $X^6$  es Thr,  $X^7$  es Pro,  $X^8$  es Tyr o Leu y  $X^9$  es Thr.

En una realización adicional, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende además una secuencia de HCDR1 de fórmula  $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8$  (SEQ ID NO: 745), en la que  $X^1$  es Gly,  $X^2$  es Phe,  $X^3$  es Thr,  $X^4$  es Phe,  $X^5$  es Ser o Asn,  $X^6$  es Ser o Asn,  $X^7$  es Tyr o His y  $X^8$  es Ala o Trp; una secuencia de HCDR2 de fórmula  $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8$  (SEQ ID NO: 746), en la que  $X^1$  es Ile,  $X^2$  es Ser o Asn,  $X^3$  es Gly o Gln,  $X^4$  es Asp o Ser,  $X^5$  es Gly,  $X^6$  es Ser o Gly,  $X^7$  es Thr o Glu y  $X^8$  es Thr o Lys; una secuencia de LCDR1 de fórmula  $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8 - X^9 - X^{10} - X^{11} - X^{12}$  (SEQ ID NO: 748) en la que  $X^1$  es Gln,  $X^2$  es Ser,  $X^3$  es Val o Leu,  $X^4$  es Leu,  $X^5$  es His o Tyr,  $X^6$  es Arg o Ser,  $X^7$  es Ser o Asn,  $X^8$  es Asn o Gly,  $X^9$  es Asn,  $X^{10}$  es Arg o Asn,  $X^{11}$  es Asn o Tyr y  $X^{12}$  es Phe o está ausente; una secuencia de LCDR2 de fórmula  $X^1 - X^2 - X^3$  (SEQ ID NO: 749) en la que  $X^1$  es Trp o Leu,  $X^2$  es Ala o Gly y  $X^3$  es Ser.

En una realización adicional, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es un anticuerpo anti-PCSK9 humana o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una región variable de la cadena pesada (HCVR) codificada por los segmentos de la secuencia de nucleótidos derivados de las secuencias de la línea germinal  $V_H$ ,  $D_H$  y  $J_H$ , y una región variable de la cadena ligera (LCVR) codificada por segmentos de la secuencia de nucleótidos derivados de secuencias de la línea germinal  $V_K$  y  $J_K$ , en el que las secuencias de la línea germinal son (a) segmento del gen  $V_H$  3-23, segmento del gen  $D_H$  7-27, segmento del gen  $J_H$  2, segmento del gen  $V_K$  4-1 y

segmento del gen J $\kappa$  2; o (b) segmento del gen V $H$  3-7, segmento del gen D $H$  2-8, segmento del gen J $H$  6, segmento del gen V $\kappa$  2-28 y segmento del gen J $\kappa$  4.

5 se muestra en SEQ ID NO: 76, 78, 80, 84, 86 y 88, o como se muestra en SEQ ID NO: 220, 222, 224, 228, 230 y 232.

En realizaciones preferidas, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo compite por unirse a PCSK9 con un anticuerpo que comprende secuencias de aminoácidos de CDR de la cadena pesada y ligera como se muestra en SEQ ID NO: 76, 78, 80, 84, 86 y 88, o como se muestra en SEQ ID NO: 220, 222, 224, 228, 230 y 232.

10 La divulgación engloba anticuerpos anti-PCSK9 que tienen un patrón de glucosilación modificado. En algunas aplicaciones, la modificación para eliminar sitios de glucosilación no deseables puede ser útil, o por ejemplo, la eliminación de un resto de fucosa para aumentar la función de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC) (véase Shield et al. (2002) JBC 277:26733). En otras aplicaciones, puede hacerse la modificación de galactosilación con el fin de modificar la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC).

15 Algunas secuencias preferidas relacionadas con los anticuerpos preferidos para poner en práctica la presente divulgación:

SEQ ID NO: 76: Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Ala

SEQ ID NO: 78: Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr

SEQ ID NO: 80: Ala Lys Asp Ser Asn Trp Gly Asn Phe Asp Leu

20 SEQ ID NO: 84: Gln Ser Val Leu Tyr Arg Ser Asn Asn Arg Asn Phe

SEQ ID NO: 86: Trp Ala Ser

SEQ ID NO: 88: Gln Gln Tyr Tyr Thr Thr Pro Tyr Thr

SEQ ID NO: 90:

[illegible]

25

SEQ ID NO: 92:

[illegible]

# ES 2 882 570 T3

SEQ ID NO: 755 (PCSK9h):

Met	Gly	Thr	Val	Ser	Ser	Arg	Arg	Ser	Trp	Trp	Pro	Leu	Pro	Leu	Leu
1				5				10						15	
Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Gly	Pro	Ala	Gly	Ala	Arg	Ala	Gln	Glu
			20					25					30		
Asp	Glu	Asp	Gly	Asp	Tyr	Glu	Glu	Leu	Val	Leu	Ala	Leu	Arg	Ser	Glu
		35				40						45			
Glu	Asp	Gly	Leu	Ala	Glu	Ala	Pro	Glu	His	Gly	Thr	Thr	Ala	Thr	Phe
	50					55					60				
His	Arg	Cys	Ala	Lys	Asp	Pro	Trp	Arg	Leu	Pro	Gly	Thr	Tyr	Val	Val
65				70						75				80	
Val	Leu	Lys	Glu	Glu	Thr	His	Leu	Ser	Gln	Ser	Glu	Arg	Thr	Ala	Arg
			85						90					95	
Arg	Leu	Gln	Ala	Gln	Ala	Ala	Arg	Arg	Gly	Tyr	Leu	Thr	Lys	Ile	Leu
			100					105					110		
His	Val	Phe	His	Gly	Leu	Leu	Pro	Gly	Phe	Leu	Val	Lys	Met	Ser	Gly
		115					120					125			
Asp	Leu	Leu	Glu	Leu	Ala	Leu	Lys	Leu	Pro	His	Val	Asp	Tyr	Ile	Glu
	130					135					140				
Glu	Asp	Ser	Ser	Val	Phe	Ala	Gln	Ser	Ile	Pro	Trp	Asn	Leu	Glu	Arg
145				150						155				160	
Ile	Thr	Pro	Pro	Arg	Tyr	Arg	Ala	Asp	Glu	Tyr	Gln	Pro	Pro	Asp	Gly
			165					170						175	
Gly	Ser	Leu	Val	Glu	Val	Tyr	Leu	Leu	Asp	Thr	Ser	Ile	Gln	Ser	Asp
			180					185					190		
His	Arg	Glu	Ile	Glu	Gly	Arg	Val	Met	Val	Thr	Asp	Phe	Glu	Asn	Val
		195				200						205			
Pro	Glu	Glu	Asp	Gly	Thr	Arg	Phe	His	Arg	Gln	Ala	Ser	Lys	Cys	Asp
	210					215					220				
Ser	His	Gly	Thr	His	Leu	Ala	Gly	Val	Val	Ser	Gly	Arg	Asp	Ala	Gly
225				230						235				240	
Val	Ala	Lys	Gly	Ala	Ser	Met	Arg	Ser	Leu	Arg	Val	Leu	Asn	Cys	Gln
			245					250					255		
Gly	Lys	Gly	Thr	Val	Ser	Gly	Thr	Leu	Ile	Gly	Leu	Glu	Phe	Ile	Arg
			260					265					270		



Lys Ser Gln Leu Val Gln Pro Val Gly Pro Leu Val Val Leu Leu Pro  
 275 280 285  
 Leu Ala Gly Gly Tyr Ser Arg Val Leu Asn Ala Ala Cys Gln Arg Leu  
 290 295 300  
 Ala Arg Ala Gly Val Val Leu Val Thr Ala Ala Gly Asn Phe Arg Asp  
 305 310 315 320  
 Asp Ala Cys Leu Tyr Ser Pro Ala Ser Ala Pro Glu Val Ile Thr Val  
 325 330 335  
 Gly Ala Thr Asn Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr Leu Gly  
 340 345 350  
 Thr Asn Phe Gly Arg Cys Val Asp Leu Phe Ala Pro Gly Glu Asp Ile  
 355 360 365  
 Ile Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val Ser Gln Ser Gly  
 370 375 380  
 Thr Ser Gln Ala Ala Ala His Val Ala Gly Ile Ala Ala Met Met Leu  
 385 390 395 400  
 Ser Ala Glu Pro Glu Leu Thr Leu Ala Glu Leu Arg Gln Arg Leu Ile  
 405 410 415  
 His Phe Ser Ala Lys Asp Val Ile Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp  
 420 425 430  
 Gln Arg Val Leu Thr Pro Asn Leu Val Ala Ala Leu Pro Pro Ser Thr  
 435 440 445  
 His Gly Ala Gly Trp Gln Leu Phe Cys Arg Thr Val Trp Ser Ala His  
 450 455 460  
 Ser Gly Pro Thr Arg Met Ala Thr Ala Val Ala Arg Cys Ala Pro Asp  
 465 470 475 480  
 Glu Glu Leu Leu Ser Cys Ser Ser Phe Ser Arg Ser Gly Lys Arg Arg  
 485 490 495  
 Gly Glu Arg Met Glu Ala Gln Gly Gly Lys Leu Val Cys Arg Ala His  
 500 505 510  
 Asn Ala Phe Gly Gly Glu Gly Val Tyr Ala Ile Ala Arg Cys Cys Leu  
 515 520 525  
 Leu Pro Gln Ala Asn Cys Ser Val His Thr Ala Pro Pro Ala Glu Ala  
 530 535 540  
 Ser Met Gly Thr Arg Val His Cys His Gln Gln Gly His Val Leu Thr  
 545 550 555 560  
 Gly Cys Ser Ser His Trp Glu Val Glu Asp Leu Gly Thr His Lys Pro  
 565 570 575  
 Pro Val Leu Arg Pro Arg Gly Gln Pro Asn Gln Cys Val Gly His Arg  
 580 585 590  
 Glu Ala Ser Ile His Ala Ser Cys Cys His Ala Pro Gly Leu Glu Cys  
 595 600 605  
 Lys Val Lys Glu His Gly Ile Pro Ala Pro Gln Glu Gln Val Thr Val  
 610 615 620  
 Ala Cys Glu Glu Gly Trp Thr Leu Thr Gly Cys Ser Ala Leu Pro Gly  
 625 630 635 640  
 Thr Ser His Val Leu Gly Ala Tyr Ala Val Asp Asn Thr Cys Val Val  
 645 650 655  
 Arg Ser Arg Asp Val Ser Thr Thr Gly Ser Thr Ser Glu Gly Ala Val  
 660 665 670  
 Thr Ala Val Ala Ile Cys Cys Arg Ser Arg His Leu Ala Gln Ala Ser  
 675 680 685  
 Gln Glu Leu Gln  
 690

#### Preparación de anticuerpos humanos

Se conocen métodos de generación de anticuerpos humanos en ratones transgénicos (véase, por ejemplo, el documento US 6.596.541, Regeneron Pharmaceuticals, VELOCIMMUNE™). La tecnología VELOCIMMUNE™ implica la generación de un ratón transgénico que tiene un genoma que comprende regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras humanas operativamente unidas a loci de región constante de ratón endógeno de forma que el ratón produzca un anticuerpo que comprende una región variable humana y una región constante de ratón en respuesta a estimulación antigénica. El ADN que codifica las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo se aísla y une operativamente a ADN que codifica las regiones constantes de las cadenas pesada y ligera humanas. El ADN se expresa entonces en una célula capaz de expresar el anticuerpo completamente humano. En una realización específica, la célula es una célula CHO.

Los anticuerpos pueden ser terapéuticamente útiles en bloquear una interacción ligando-receptor o inhibir la interacción del componente del receptor, en vez de destruir células mediante fijación del complemento y

participación en la citotoxicidad dependiente de complemento (CDC), o destruir células mediante citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC). La región constante de un anticuerpo es así importante en la capacidad de un anticuerpo para fijar el complemento y mediar en la citotoxicidad dependiente de célula. Así, el isotipo de un anticuerpo puede seleccionarse basándose en si se desea que el anticuerpo medie en la citotoxicidad.

Los anticuerpos humanos pueden existir en dos formas que están asociadas a heterogeneidad de la bisagra. En una forma, una molécula de anticuerpo comprende una construcción de cuatro cadenas estable de aproximadamente 150-160 kDa en la que los dímeros se mantienen juntos por un enlace disulfuro de cadena pesada intercatenarior. En una segunda forma, los dímeros no están unidos mediante enlaces disulfuro intercatenarios y se forma una molécula de aproximadamente 75-80 kDa compuesta de una cadena ligera y pesada acopladas covalentemente (semi-anticuerpo). Estas formas han sido extremadamente difíciles de separar, incluso después de purificación por afinidad.

La frecuencia de aparición de la segunda forma en diversos isotipos de IgG intacta es debida a diferencias estructurales asociadas al isotipo de región bisagra del anticuerpo. Una simple sustitución de aminoácidos en la región bisagra de la bisagra de IgG4 humana puede reducir significativamente la aparición de la segunda forma (Angal et al. (1993) *Molecular Immunology* 30:105) hasta niveles normalmente observados usando una bisagra de IgG1 humana. La presente divulgación engloba anticuerpos que tienen una o más mutaciones en la región bisagra, CH<sub>2</sub> o CH<sub>3</sub>, que pueden ser deseables, por ejemplo, en la producción, para mejorar el rendimiento de la forma de anticuerpo deseada.

Generalmente, un ratón VELOCIMMUNE™ se expone al antígeno de interés, y células linfáticas (tales como linfocitos B) se recuperan de los ratones que expresan los anticuerpos. Las células linfáticas pueden fusionarse con una línea de células de mieloma para preparar líneas celulares de hibridoma inmortal, y tales líneas celulares de hibridoma se criban y seleccionan para identificar líneas celulares de hibridoma que producen anticuerpos específicos para el antígeno de interés. El ADN que codifica las regiones variables de la cadena pesada y cadena ligera puede aislarse y unirse a regiones constantes isotópicas deseables de la cadena pesada y cadena ligera. Una proteína de anticuerpo tal puede producirse en una célula, tal como una célula CHO. Alternativamente, el ADN que codifica los anticuerpos quiméricos específicos de antígeno o los dominios variables de las cadenas ligeras y pesadas pueden aislarse directamente de linfocitos específicos de antígeno.

Inicialmente, se aíslan anticuerpos quiméricos de alta afinidad que tienen una región variable humana y una región constante de ratón. Como se describe más adelante, los anticuerpos se caracterizan y se seleccionan por características deseables, incluyendo afinidad, selectividad, epítipo. Las regiones constantes de ratón se reemplazan con una región constante humana deseada para generar el anticuerpo completamente humano desvelado en el presente documento, por ejemplo, IgG1 o IgG4 no mutante o modificado (por ejemplo, SEQ ID NO: 751, 752, 753). Aunque la región constante seleccionada puede variar según el uso específico, la unión al antígeno con alta afinidad y las características de especificidad por diana residen en la región variable.

#### Mapeo de epítopes y tecnologías relacionadas

Para seleccionar anticuerpos que se unen a un epítipo particular (por ejemplo, aquellos que bloquean la unión de IgE a su receptor de alta afinidad), puede realizarse un ensayo de bloqueo cruzado rutinario tal como el descrito en *Antibodies*, Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY). Otros métodos incluyen mutantes de barrido con alanina, transferencias de péptidos (Reineke (2004) *Methods Mol Biol* 248:443-63), o análisis por escisión de péptidos. Además, pueden emplearse métodos tales como escisión de epítopes, extracción de epítopes y modificación química de antígenos (Tomer (2000) *Protein Science* 9: 487-496).

El término "epítipo" se refiere a un sitio sobre un antígeno al que responden los linfocitos B y/o T. Pueden formarse epítopes de linfocitos B tanto a partir tanto de aminoácidos contiguos como de aminoácidos no contiguos yuxtapuestos mediante el plegamiento terciario de una proteína. Los epítopes formados a partir de aminoácidos contiguos son normalmente retenidos por exposición a disolventes desnaturizantes, mientras que los epítopes formados por plegamiento terciario normalmente se pierden en el tratamiento con disolventes desnaturizantes. Un epítipo normalmente incluye al menos 3, y más usualmente, al menos 5 u 8-10 aminoácidos en una única conformación espacial.

El perfilado asistido por modificación (MAP), también conocido como perfilado de anticuerpo basado en la estructura del antígeno (ASAP), es un método que clasifica grandes números de anticuerpos monoclonales (mAbs) dirigidos frente al mismo antígeno según las similitudes del perfil de unión de cada anticuerpo a las superficies del antígeno modificadas química o enzimáticamente (documento US 2004/0101920). Cada categoría puede reflejar un epítipo único bien claramente diferente de o bien parcialmente solapante con el epítipo representado por otra categoría. Esta tecnología permite el filtrado rápido de mAbs genéticamente idénticos, tal que la caracterización pueda basarse en mAbs genéticamente distintos. Cuando se aplica al cribado del hibridoma, el MAP puede facilitar la identificación de clones raros de hibridoma que producen mAb que tienen las características deseadas. El MAP puede usarse para clasificar los mAbs anti-PCSK9 desvelados en el presente documento en grupos de mAb que unen diferentes epítopes.

En diversas realizaciones, el anticuerpo anti-PCSK9h o fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo une un epítoto dentro del dominio catalítico, que es aproximadamente 153 a 425 de SEQ ID NO: 755); más específicamente, un epítoto de aproximadamente 153 a aproximadamente 250 o de aproximadamente 250 a aproximadamente 425; más específicamente, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo desvelado en el presente documento une un epítoto dentro del fragmento de aproximadamente 153 a aproximadamente 208, de aproximadamente 200 a aproximadamente 260, de aproximadamente 250 a aproximadamente 300, de aproximadamente 275 a aproximadamente 325, de aproximadamente 300 a aproximadamente 360, de aproximadamente 350 a aproximadamente 400, y/o de aproximadamente 375 a aproximadamente 425.

En diversas realizaciones, el anticuerpo anti-PCSK9h o fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo une un epítoto dentro del dominio de propéptido (restos 31 a 152 de SEQ ID NO: 755); más específicamente, un epítoto de aproximadamente el resto 31 a aproximadamente el resto 90 o de aproximadamente el resto 90 a aproximadamente el resto 152; más específicamente, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo desvelado en el presente documento une un epítoto dentro del fragmento de aproximadamente el resto 31 a aproximadamente el resto 60, de aproximadamente el resto 60 a aproximadamente el resto 90, de aproximadamente el resto 85 a aproximadamente el resto 110, de aproximadamente el resto 100 a aproximadamente el resto 130, de aproximadamente el resto 125 a aproximadamente el resto 150, de aproximadamente el resto 135 a aproximadamente el resto 152, y/o de aproximadamente el resto 140 a aproximadamente el resto 152.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PCSK9h o fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo une un epítoto dentro del dominio del extremo C (restos 426 a 692 de SEQ ID NO: 755); más específicamente, un epítoto de aproximadamente el resto 426 a aproximadamente el resto 570 o de aproximadamente el resto 570 a aproximadamente el resto 692; más específicamente, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo desvelado en el presente documento une un epítoto dentro del fragmento de aproximadamente el resto 450 a aproximadamente el resto 500, de aproximadamente el resto 500 a aproximadamente el resto 550, de aproximadamente el resto 550 a aproximadamente el resto 600, y/o de aproximadamente el resto 600 a aproximadamente el resto 692.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo une un epítoto que incluye más de uno de los epítopos enumerados dentro del dominio catalítico, de propéptido o del extremo C, y/o dentro de dos o tres dominios diferentes (por ejemplo, epítopos dentro de los dominios catalítico y del extremo C, o dentro de los dominios del propéptido y catalíticos, o dentro de los dominios del propéptido, catalítico y del extremo C).

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno une un epítoto en PCSK9h que comprende el resto de aminoácido 238 de PCSK9h (SEQ ID NO: 755). Resultados experimentales (véase el documento US 2010/0166768) muestran que cuando D238 se mutó, la  $K_D$  de mAb 316P presentó una reducción de >400 veces en la afinidad de unión ( $\sim 1 \times 10^{-9}$  M a  $\sim 410 \times 10^{-9}$  M) y  $T_{1/2}$  disminuyó >30 veces (de  $\sim 37$  a  $\sim 1$  min). En una realización específica, la mutación fue D238R. En realizaciones específicas, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno desvelado en el presente documento une un epítoto de PCSK9h que comprende dos o más de los restos de aminoácidos en las posiciones 153, 159, 238 y 343.

Como se muestra anteriormente (documento US 2010/0166768), una mutación en el resto de aminoácido 153, 159 o 343 produjo aproximadamente una disminución de 5 a 10 veces en la afinidad o acortamiento similar en  $T_{1/2}$ . En realizaciones específicas, la mutación fue S153R, E159R y/o D343R.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmentos de unión al antígeno une un epítoto en PCSK9h que comprende el resto de aminoácido 366 de PCSK9h (SEQ ID NO: 755). Resultados experimentales (véase el documento US 2010/0166768) muestran que cuando E366 se mutó, la afinidad del mAb 300N presentó una disminución de aproximadamente 50 veces ( $\sim 0,7 \times 10^{-9}$  M a  $\sim 36 \times 10^{-9}$  M) y un acortamiento similar en  $T_{1/2}$  (de  $\sim 120$  a  $\sim 2$  min). En una realización específica, la mutación es E366K.

La presente divulgación incluye anticuerpos anti-PCSK9 que unen al mismo epítoto que cualquiera de los anticuerpos a modo de ejemplo específicos descritos en el presente documento. Similarmente, la presente divulgación también incluye anticuerpos anti-PCSK9 que compiten para unirse a PCSK9 o un fragmento de PCSK9 con cualquiera de los anticuerpos a modo de ejemplo específicos descritos en el presente documento.

Puede determinarse fácilmente si un anticuerpo se une al mismo epítoto o no, o compete por la unión con un anticuerpo anti-PCSK9 de referencia usando métodos rutinarios conocidos en la técnica. Por ejemplo, para determinar si un anticuerpo de prueba se une al mismo epítoto que un anticuerpo anti-PCSK9 de referencia desvelado en el presente documento, se deja que el anticuerpo de referencia se una a una proteína o péptido PCSK9 en condiciones de saturación. A continuación, se evalúa la capacidad de un anticuerpo de prueba para unirse a la molécula de PCSK9. Si el anticuerpo de prueba es capaz de unirse a PCSK9 tras la unión de saturación con el anticuerpo anti-PCSK9 de referencia, se puede sacar la conclusión de que el anticuerpo de prueba se une con un epítoto diferente que el anticuerpo anti-PCSK9 de referencia. Por otro lado, si el anticuerpo de prueba no es capaz de unirse a la molécula de PCSK9 tras la unión de saturación con el anticuerpo anti-PCSK9 de referencia, entonces el anticuerpo de prueba puede unirse al mismo epítoto que el epítoto unido por el anticuerpo anti-PCSK9 de referencia desvelado en el presente documento.

Para determinar si un anticuerpo compite por la unión con un anticuerpo anti-PCSK9 de referencia, la metodología de unión anteriormente descrita se realiza en dos orientaciones: En una primera orientación, se deja que el anticuerpo de referencia se una a una molécula de PCSK9 en condiciones de saturación, seguido por la evaluación de la unión del anticuerpo de prueba a la molécula de PCSK9. En una segunda orientación, se deja que el anticuerpo de prueba se una a una molécula de PCSK9 en condiciones de saturación, seguido por la evaluación de la unión del anticuerpo de referencia a la molécula de PCSK9. Si, en ambas orientaciones, solamente el primer anticuerpo (de saturación) es capaz de unión a la molécula de PCSK9, entonces se llega a la conclusión de que el anticuerpo de prueba y el anticuerpo de referencia compiten por la unión a la PCSK9. Como se apreciará por un experto habitual en la materia, un anticuerpo que compite por la unión con un anticuerpo de referencia puede no unirse necesariamente al epítipo idéntico que el anticuerpo de referencia, pero puede bloquear estéricamente la unión del anticuerpo de referencia mediante la unión con un epítipo solapante o adyacente.

Dos anticuerpos se unen al mismo epítipo o epítipo de solapamiento si cada uno inhibe (bloquea) competitivamente la unión del otro al antígeno. Es decir, un exceso de 1, 5, 10, 20 o 100 veces de un anticuerpo inhibe la unión del otro al menos el 50 %, pero preferentemente el 75 %, 90 % o incluso el 99 % como se mide en un ensayo de unión competitiva (véase, por ejemplo, Junghans et al., Cancer Res. 1990 50: 1495-1502). Alternativamente, dos anticuerpos tienen el mismo epítipo si esencialmente todas las mutaciones de aminoácidos en el antígeno que reducen o eliminan la unión de un anticuerpo reducen o eliminan la unión del otro. Dos anticuerpos tienen epítopes de solapamiento si algunas mutaciones de aminoácidos que reducen o eliminan la unión de un anticuerpo reducen o eliminan la unión del otro.

Puede entonces llevarse a cabo experimentación rutinaria adicional (por ejemplo, mutación de péptidos y análisis de unión) para confirmar si la ausencia observada de unión del anticuerpo de prueba es de hecho debida a la unión al mismo epítipo que el anticuerpo de referencia o si el bloqueo estérico (u otro fenómeno) es el responsable de la ausencia de unión observada. Pueden realizarse experimentos de este tipo usando ELISA, RIA, resonancia de plasmones superficiales, citometría de flujo o cualquier otro ensayo de unión de anticuerpo cuantitativo o cualitativo disponible en la materia.

En una realización específica, la divulgación comprende un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo que se une a una proteína PCSK9 de SEQ ID NO: 755, en el que la unión entre el anticuerpo o fragmento del mismo a PCSK9 y una proteína PCSK9 de variante es inferior al 50 % de la unión entre el anticuerpo o fragmento y la proteína PCSK9 de SEQ ID NO: 755. En una realización específica, la proteína PCSK9 de variante comprende al menos una mutación de un resto en una posición seleccionada del grupo que consiste en 153, 159, 238 y 343. En una realización más específica, la al menos una mutación es S153R, E159R, D238R y/o D343R. En otra realización específica, la proteína PCSK9 de variante comprende al menos una mutación de un resto en una posición seleccionada del grupo que consiste en 366. En una realización específica, la proteína PCSK9 de variante comprende al menos una mutación de un resto en una posición seleccionada del grupo que consiste en 147, 366 y 380. En una realización más específica, la mutación es S147F, E366K y V380M.

#### Inmunoconjugados

La divulgación engloba un anticuerpo monoclonal anti-PCSK9 humana conjugado con un resto terapéutico ("inmunoconjugado") tal como una citotoxina, un fármaco quimioterapéutico, un inmunosupresor o un radioisótopo. Agentes de citotoxina incluyen cualquier agente que sea perjudicial para las células. Ejemplos de agentes de citotoxina y agentes quimioterapéuticos adecuados para formar inmunoconjugados son conocidos en la técnica, véase, por ejemplo el documento WO 05/103081.

#### Biespecíficos

Los anticuerpos de la presente divulgación pueden ser monoespecíficos, biespecíficos o multiespecíficos. Los mAb multiespecíficos pueden ser específicos para diferentes epítopes de un polipéptido diana o pueden contener dominios de unión al antígeno específicos para más de un polipéptido diana. Véase, por ejemplo, Tutt et al. (1991) J. Immunol. 147:60-69. Los mAbs anti-PCSK9 humana pueden unirse o co-expresarse con otra molécula funcional, por ejemplo, otro péptido o proteína. Por ejemplo, un anticuerpo o fragmento del mismo puede unirse funcionalmente (por ejemplo, por acoplamiento químico, fusión genética, asociación no covalente o de otra forma) a una o más de otras entidades moleculares; tales como otro anticuerpo o fragmento de anticuerpo, para producir un anticuerpo biespecífico o multiespecífico con una segunda especificidad de unión.

Un formato de anticuerpo biespecífico a modo de ejemplo que puede usarse en el contexto de la presente divulgación implica el uso de un primer dominio CH<sub>3</sub> de inmunoglobulina (Ig) y un segundo dominio CH<sub>3</sub> de Ig, en el que el primer y segundo dominios CH<sub>3</sub> de Ig difieren entre sí en al menos un aminoácido, y en el que la diferencia de al menos un aminoácido reduce la unión del anticuerpo biespecífico a la proteína A en comparación con un anticuerpo biespecífico que carece de la diferencia de aminoácido. En una realización, el primer dominio CH<sub>3</sub> de Ig se une a la proteína A y el segundo dominio CH<sub>3</sub> de Ig contiene una mutación que reduce o suprime la unión a la proteína A tal como una modificación de H95R (por numeración de exones de IMGT; H435R por numeración EU). El segundo CH<sub>3</sub> puede comprender además una modificación Y96F (por IMGT; Y436F por EU). Modificaciones adicionales que se pueden encontrar dentro del segundo CH<sub>3</sub> incluyen; D16E, L18M, N44S, K52N, V57M y V82I (por

IMGT; D356E, L358M, N384S, K392N, V397M y V422I por EU) en el caso de anticuerpos IgG1; N44S, K52N y V82I (IMGT; N384S, K392N y V422I por EU) en el caso de anticuerpos IgG2; y Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q y V82I (por IMGT; Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q y V422I por EU) en el caso de anticuerpos IgG4. Variaciones del formato de anticuerpo bi-específico descrito anteriormente se contemplan dentro del alcance de la presente divulgación.

#### Bioequivalentes

Los anticuerpos anti-PCSK9 y fragmentos de anticuerpos de la presente divulgación engloban proteínas que tienen secuencias de aminoácidos que varían de aquellas de los mAbs descritos, pero que retienen la capacidad de unirse a PCSK9 humana. Tales mAbs de variante y fragmentos de anticuerpos comprenden una o más adiciones, deleciones o sustituciones de aminoácidos cuando se comparan con la secuencia de origen, pero presentan actividad biológica que es esencialmente equivalente a la de los mAbs descritos. Asimismo, las secuencias de ADN que codifican el anticuerpo anti-PCSK9 de la presente divulgación engloban secuencias que comprenden una o más adiciones, deleciones o sustituciones de nucleótidos cuando se comparan con la secuencia desvelada, pero que codifican un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de anticuerpo que es esencialmente bioequivalente a un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de anticuerpo desvelado en el presente documento. Ejemplos de tales secuencias de aminoácidos y de ADN de variante se tratan anteriormente.

Dos proteínas de unión al antígeno, o anticuerpos, se consideran bioequivalentes si, por ejemplo, son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas cuya tasa y grado de absorción no muestran una diferencia significativa cuando se administran a la misma dosis molar bajo condiciones experimentales similares, tanto dosis únicas como dosis múltiples. Algunos anticuerpos se considerarán equivalentes o alternativas farmacéuticas si son equivalentes en el grado de su absorción, pero no en su tasa de absorción, y aún pueden considerarse bioequivalentes debido a que tales diferencias en la tasa de absorción son intencionadas y se reflejan en el marcado, no son esenciales para la obtención de concentraciones de fármaco en el cuerpo eficaces en, por ejemplo, uso crónico, y se consideran médicamente insignificativas para el medicamento particular estudiado. En una realización, dos proteínas de unión al antígeno son bioequivalentes si no hay diferencias clínicamente significativas en su seguridad, pureza y potencia.

En una realización, dos proteínas de unión al antígeno son bioequivalentes si un paciente puede cambiarse una o más veces entre el producto de referencia y el producto biológico sin un aumento esperado en el riesgo de efectos adversos, que incluyen un cambio clínicamente significativo en la inmunogenicidad, o eficacia reducida, en comparación con la terapia continuada sin tal cambio.

En una realización, dos proteínas de unión al antígeno son bioequivalentes si ambas actúan por un mecanismo o mecanismos de acción comunes para la condición o condiciones de uso, hasta el punto que tales mecanismos sean conocidos.

La bioequivalencia puede demostrarse por métodos *in vivo* e *in vitro*. Las medidas de bioequivalencia incluyen, por ejemplo, (a) una prueba *in vivo* en seres humanos u otros mamíferos, en la que la concentración de anticuerpo o sus metabolitos se mide en sangre, plasma, suero, u otro fluido biológico en función del tiempo; (b) una prueba *in vitro* que se ha correlacionado con y es razonablemente predictiva de datos de biodisponibilidad humana *in vivo*; (c) una prueba *in vivo* en seres humanos u otros mamíferos en la que se mide el efecto farmacológico agudo apropiado del anticuerpo (o su diana) en función del tiempo; y (d) en un ensayo clínico bien controlado que establece la seguridad, eficacia, o biodisponibilidad o bioequivalencia de un anticuerpo.

Pueden construirse variantes bioequivalentes de anticuerpos anti-PCSK9 de la desvelados en el presente documento, por ejemplo, haciendo diversas sustituciones de restos o secuencias o delecionando restos terminales o internos o secuencias no necesarias para la actividad biológica. Por ejemplo, pueden deleccionarse o sustituirse restos de cisteína no esenciales para la actividad biológica con otros aminoácidos para prevenir la formación de puentes disulfuro intramoleculares innecesarios o incorrectos tras la renaturalización.

#### Población de tratamiento

La divulgación proporciona métodos terapéuticos para tratar un paciente humano en necesidad de una composición desvelada en el presente documento. Aunque modificaciones en el estilo de vida y el tratamiento con fármacos convencionales son frecuentemente satisfactorios en reducir los niveles de colesterol, no todos los pacientes son capaces de lograr los niveles de colesterol objetivo recomendados con tales enfoques. Diversas afecciones, tales como la hipercolesterolemia familiar (FH), parecen ser resistentes a reducir los niveles de C-LDL, a pesar del uso agresivo de terapia convencional. La hipercolesterolemia familiar homocigótica y heterocigótica (hoFH, heFH) es una afección asociada a enfermedad vascular aterosclerótica prematura. Sin embargo, los pacientes diagnosticados con hoFH son muy insensibles a la terapia con fármacos convencional y tienen opciones de tratamiento limitadas. Específicamente, el tratamiento con estatinas, que reducen C-LDL inhibiendo la síntesis del colesterol y regulando por incremento el receptor de LDL hepático, puede tener poco efecto en pacientes cuyos receptores de LDL son no existentes o defectuosos. Se ha informado recientemente de una reducción de C-LDL media de solo menos de aproximadamente el 20 % en pacientes con hoFH confirmada por genotipo tratados con la dosis máxima de estatinas. La adición de ezetimiba 10 mg/día a esta pauta produjo una reducción total de los niveles de C-LDL del

27 %, que está todavía muy lejos de la óptima. Asimismo, muchos pacientes son no sensibles a las estatinas, están poco controlados con la terapia con estatinas, o no pueden tolerar la terapia con estatinas; en general, estos pacientes son incapaces de lograr el control del colesterol con tratamientos alternativos. Hay una gran necesidad médica sin cumplir de nuevos tratamientos que puedan tratar los inconvenientes de las actuales opciones de tratamiento.

Poblaciones específicas tratables por los métodos terapéuticos desvelados en el presente documento incluyen sujetos indicados para aféresis de LDL, sujetos con mutaciones activantes de PCSK9 (mutaciones de aumento de función, "GOF"), sujetos con hipercolesterolemia familiar heterocigótica (heFH); sujetos con hipercolesterolemia primaria que son intolerantes a las estatinas o no controlados con estatinas; y sujetos en riesgo de desarrollar hipercolesterolemia que puede ser tratada preventivamente. Otras indicaciones incluyen hiperlipidemia y dislipidemia asociada a causas secundarias tales como diabetes mellitus de tipo 2, enfermedades hepáticas colestáticas (cirrosis biliar primaria), síndrome nefrótico, hipotiroidismo, obesidad; y la prevención y el tratamiento de aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, dependiendo de la gravedad de las enfermedades y afecciones anteriormente mencionadas, el tratamiento de sujetos con los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno desvelados en el presente documento puede estar contraindicado para ciertas enfermedades y afecciones.

#### Administración terapéutica y formulaciones

La divulgación proporciona composiciones terapéuticas que comprenden los anticuerpos anti-PCSK9 o fragmentos de unión al antígeno de los mismos desvelados en la presente invención. La administración de composiciones terapéuticas desveladas en el presente documento se administrará con vehículos adecuados, excipientes, y otros agentes que se incorporan en las formulaciones para proporcionar transferencia mejorada, administración, tolerancia. Puede encontrarse una multitud de formulaciones apropiadas en el formulario conocido para todos los químicos farmacéuticos: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Estas formulaciones incluyen, por ejemplo, polvos, pastas, pomadas, gelatinas, ceras, aceites, lípidos, vesículas que contienen lípidos (catiónicos o aniónico) (tales como LIPOFECTIN™), conjugados de ADN, pastas de absorción anhidras, emulsiones de aceite en agua y de agua en aceite, emulsiones Carbowax (polietilenglicoles de diversos pesos moleculares), geles semi-sólidos y mezclas semi-sólidas que contienen Carbowax. Véase también Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

La dosis puede variar dependiendo de la edad y el tamaño de un sujeto que va a administrarse, enfermedad objetivo, afecciones, vía de administración. Cuando el anticuerpo de la presente divulgación se usa para tratar diversas afecciones y enfermedades asociadas a PCSK9, que incluyen hipercolesterolemia, trastornos asociados a LDL y apolipoproteína B, y trastornos del metabolismo de los lípidos, en un paciente adulto, es ventajoso administrar por vía intravenosa el anticuerpo de la presente divulgación normalmente a una dosis única de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, más preferentemente aproximadamente 0,02 a aproximadamente 7, aproximadamente 0,03 a aproximadamente 5, o aproximadamente 0,05 a aproximadamente 3 mg/kg de peso corporal. Dependiendo de la gravedad de la afección, pueden ajustarse la frecuencia y la duración del tratamiento.

Se conocen diversos sistemas de administración y pueden usarse para administrar las composiciones farmacéuticas desveladas en el presente documento, por ejemplo, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, células recombinantes capaces de expresar los virus mutantes, endocitosis mediada por receptor (véase, por ejemplo, Wu et al. (1987) J. Biol. Chem. 262:4429-4432). Los métodos de introducción incluyen vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural, y oral y peroral. Si el anticuerpo desvelado en el presente documento se administra por inyección, se prefiere inyección subcutánea. Se prefiere administración oral o peroral para el inhibidor de HMG-CoA, por ejemplo, la estatina.

La composición puede administrarse por cualquier vía conveniente, por ejemplo por infusión o inyección en bolo, por absorción a través de los revestimientos epiteliales o mucocutáneos (por ejemplo, mucosa oral, mucosa rectal e intestinal) y puede administrarse junto con otros agentes biológicamente activos. La administración puede ser sistémica o local. La composición farmacéutica también puede administrarse en una vesícula, en particular un liposoma (véase Langer (1990) Science 249:1527-1533; Treat et al. (1989) en Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353-365; Lopez-Berestein, arriba, pp. 317-327; véase generalmente arriba).

En ciertas situaciones, la composición farmacéutica puede administrarse en un sistema de liberación controlada. En una realización, puede usarse una bomba (véase Langer, arriba; Sefton (1987) CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201). En otra realización, pueden usarse materiales poliméricos; véase, Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Florida (1974). En otra realización más, un sistema de liberación controlada puede colocarse en proximidad de la diana de la composición, requiriendo así solo una fracción de la dosis sistémica (véase, por ejemplo, Goodson, en Medical Applications of Controlled Release, arriba, vol. 2, pp. 115-138, 1984).

Las preparaciones inyectables pueden incluir formas de dosificación para inyecciones intravenosa, subcutánea, intracutánea e intramuscular, infusiones por goteo. Estas preparaciones inyectables pueden prepararse por métodos

públicamente conocidos. Por ejemplo, las preparaciones inyectables pueden prepararse, por ejemplo, disolviendo, suspendiendo o emulsionando el anticuerpo o su sal descrito anteriormente en un medio acuoso estéril o un medio aceitoso convencionalmente usado para inyecciones. Como medio acuoso para inyecciones, están, por ejemplo, solución salina fisiológica, una solución isotónica que contiene glucosa y otros agentes auxiliares, que pueden usarse en combinación con un agente solubilizante apropiado tal como un alcohol (por ejemplo, etanol), un polialcohol (por ejemplo, propilenglicol, polietilenglicol), un tensioactivo no iónico [por ejemplo, polisorbato 80, HCO-50 (aducto de polioxietileno (50 moles) de aceite de ricino hidrogenado)]. Como medio aceitoso se emplean, por ejemplo, aceite de sésamo, aceite de soja, que pueden usarse en combinación con un agente solubilizante tal como benzoato de bencilo, alcohol bencilico. La inyección así preparada se llena preferentemente en una ampolla apropiada. Una composición farmacéutica de la presente divulgación puede administrarse por vía subcutánea o por vía intravenosa con una aguja y jeringa convencionales. Además, con respecto a la administración subcutánea, un dispositivo de administración de pluma tiene fácilmente aplicaciones en la administración de una composición farmacéutica de la presente divulgación. Un dispositivo de administración de pluma tal puede ser reutilizable o desechable. Un dispositivo de administración de pluma reutilizable generalmente utiliza un cartucho reemplazable que contiene una composición farmacéutica. Una vez se ha administrado toda la composición farmacéutica dentro del cartucho y el cartucho está vacío, el cartucho vacío puede desecharse fácilmente y sustituirse con un cartucho nuevo que contiene la composición farmacéutica. El dispositivo de administración de pluma puede entonces reutilizarse. En un dispositivo de administración de pluma desechable, no hay cartucho sustituible. Más bien, el dispositivo de administración de pluma desechable viene precargado con la composición farmacéutica contenida en un recipiente dentro del dispositivo. Una vez se vacía el recipiente de la composición farmacéutica, se desecha el dispositivo entero.

Numerosos dispositivos de administración de pluma y autoinyectores reutilizables tienen aplicaciones en la administración subcutánea de una composición farmacéutica de la presente divulgación. Ejemplos incluyen AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, RU), pluma DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Burghdorf, Suiza), pluma HUMALOG MIX 75/25™, pluma HUMALOG™, pluma HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co., Indianápolis, IN), NOVOPEN™ I, II y III (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca), pluma BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ y OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Alemania), por nombrar algunos. Ejemplos de dispositivos de administración de pluma desechables que tienen aplicaciones en la administración subcutánea de una composición farmacéutica de la presente divulgación incluyen pluma SOLOSTAR™ (sanofi-aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk) y KWIKPEN™ (Eli Lilly).

Ventajosamente, las composiciones farmacéuticas para uso oral o parenteral descritas anteriormente se preparan en formas de dosificación en una dosis unitaria adecuada para adecuarse a una dosis de los principios activos. Tales formas de dosificación en una dosis unitaria incluyen, por ejemplo, comprimidos, píldoras, cápsulas, inyecciones (ampollas), supositorios. La cantidad del anticuerpo anteriormente dicho contenida es generalmente aproximadamente 4 a aproximadamente 500 mg o de aproximadamente, de aproximadamente 5 a aproximadamente 500 mg por forma de dosificación en una dosis unitaria; especialmente en forma de inyección, se prefiere que el anticuerpo anteriormente dicho esté contenido en aproximadamente 5 a aproximadamente 100 mg o aproximadamente 5 a 400 mg (tal como de aproximadamente 50 a aproximadamente 200 mg por 1 ml de disolución para inyección) y en aproximadamente 10 a aproximadamente 250 mg o a aproximadamente 500 mg para las otras formas de dosificación.

La divulgación proporciona métodos terapéuticos en los que el anticuerpo o fragmento de anticuerpo desvelado en el presente documento es útil para tratar hipercolesterolemia asociada a una variedad de afecciones que implican a PCSK9h. Los anticuerpos anti-PCSK9 o fragmentos de anticuerpos desvelados en el presente documento son particularmente útiles para el tratamiento de hipercolesterolemia. Las terapias de combinación pueden incluir el anticuerpo anti-PCSK9 desvelado en el presente documento con, por ejemplo, uno o más de cualquier agente que (1) induce un agotamiento celular de la síntesis de colesterol inhibiendo la 3-hidroxi-3-metilglutaril (HMG)-coenzima A (CoA) reductasa, tal como cerivastatina, atorvastatina, simvastatina, pitavastatina, rosuvastatina, fluvastatina, lovastatina, pravastatina; (2) inhibe la captación de colesterol y o re-absorción de ácidos biliares; (3) aumenta el catabolismo de lipoproteínas (tales como niacina); y activadores del factor de transcripción de LXR que desempeña una función en la eliminación de colesterol tales como 22-hidroxicoolesterol o combinaciones fijas tales como ezetimiba más simvastatina; una estatina con una resina biliar (por ejemplo, colestiramina, colestipol, colesevelam), una combinación fija de niacina más una estatina (por ejemplo, niacina con lovastatina); o con otros agentes hipolipemiantes tales como ésteres etílicos de ácidos grasos omega-3 (por ejemplo, omacor).

## EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se exponen de manera que se proporcione a aquellos expertos habituales en la materia de una divulgación y descripción completas de cómo preparar y usar los métodos y composiciones desvelados en el presente documento. Se han hecho esfuerzos para garantizar la exactitud con respecto a los números usados, pero deben tenerse en cuenta algunos errores experimentales y desviaciones. A menos que se indique lo contrario, el peso molecular es peso molecular promedio, la temperatura es en grados centígrados y la presión es atmosférica o próxima a atmosférica.

## Estudio 1

Éste fue un estudio de 12 semanas multicéntrico, aleatorizado, de doble ciego, de grupos paralelos, controlado por placebo, para evaluar la eficacia y seguridad del anticuerpo 316P en pacientes con un elevado colesterol de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) ( $\geq 100$  mg/dl o 2,59 mmol/l), cuando se tratan con atorvastatina (10 mg, 20 mg, o 40 mg) a una dosis estable durante al menos 6 semanas. La aleatorización se estratificó por la dosis de atorvastatina recibida antes de la aleatorización. Después del periodo de doble ciego, los pacientes fueron seguidos durante un periodo de tratamiento de 8 semanas. El objetivo primario del estudio era evaluar el efecto del anticuerpo 316P sobre los niveles de C-LDL después de 12 semanas de tratamiento en comparación con placebo en pacientes con C-LDL ( $\geq 100$  mg/dl o 2,59 mmol/l) con terapia de atorvastatina estable continua.

Se evaluaron las siguientes dosis/pautas de dosis: 50 mg, 100 mg y 150 mg cada 2 semanas (E2W), 200 mg y 300 mg cada 4 semanas (E4W) en comparación con placebo.

El presente estudio comprendió un total de 122 pacientes (20 en placebo, 19 en el grupo de 50 mg E2W, 20 en el grupo de 100 mg E2W, 20 en el grupo de 150 mg E2W, 22 en el grupo de 200 mg E4W y 21 en el grupo de 300 mg E4W). Cuarenta y seis (37,7 %) de estos pacientes se aleatorizaron en el estrato atorvastatina 10 mg, 43 (35,2 %) en el estrato atorvastatina 20 mg y 33 (27,0 %) en el estrato atorvastatina 40 mg.

## Selección de pacientes

## Criterios de inclusión:

- Pacientes (pacientes que reciben un tratamiento hipolipemiante distinto de atorvastatina/ o no a dosis estable de atorvastatina 10 mg, 20 mg o 40 mg durante al menos 6 semanas antes del periodo de selección o pacientes sin tratamiento previo con el fármaco) con hipercolesterolemia primaria que probablemente tengan colesterol de lipoproteína de baja densidad (C-LDL)  $\geq 100$  mg/dl ( $\geq 2,59$  mmol/l) al final del periodo de preinclusión en la terapia de atorvastatina (Semana-1).

O

- Pacientes con hipercolesterolemia primaria tratados con atorvastatina a dosis estable de 10 mg, 20 mg o 40 mg durante al menos 6 semanas antes del periodo de selección y que probablemente tengan C-LDL  $\geq 100$  mg/dl ( $\geq 2,59$  mmol/l) en la Semana -1 de la visita de selección.

## Criterios de exclusión:

- C-LDL  $< 100$  mg/dl ( $< 2,59$  mmol/l) en la Semana-1 (V1):
  - Después del periodo de preinclusión con atorvastatina (10 mg, 20 mg o 40 mg) para los pacientes que reciben un tratamiento hipolipemiante distinto de atorvastatina/ o no a dosis estable de atorvastatina 10 mg, 20 mg o 40 mg durante al menos 6 semanas antes del periodo de selección, o pacientes sin tratamiento previo con el fármaco.

O

- En la primera visita para pacientes que están tratándose con dosis estable de atorvastatina (10 mg, 20 mg o 40 mg) durante al menos 6 semanas antes de la Semana-1 de la visita de selección.

- Uso de una estatina distinta de atorvastatina 10 mg, 20 mg o 40 mg, o uso de otros fármacos hipolipemiantes que incluyen fibratos, resinas de ácidos biliares, niacina  $> 500$  mg, bloqueantes de la absorción de colesterol intestinal (ICA), o ácidos grasos omega-3 a dosis  $> 1000$  mg durante el periodo de selección.

- Índice de masa corporal (IMC)  $< 18$  o  $> 40$  kg/m<sup>2</sup> en la Semana-7 o Semana-1.

- Pacientes no previamente aconsejados sobre una dieta hipocolesterolemia.

- Pacientes con diabetes de tipo 1.

- Pacientes con diabetes de tipo 2 tratados con insulina.

- Pacientes con diabetes de tipo 2 y con un HbA1c  $\geq 8,5$  % en la Semana-7 o Semana-1 (considerados poco controlados).

- Datos de laboratorio medidos antes de la aleatorización:

- Prueba positiva para antígeno de superficie de la hepatitis B y/o anticuerpo contra la hepatitis C.
- Triglicéridos (TG)  $> 350$  mg/dl ( $> 3,95$  mmol/l) en la Semana -7 o Semana -1.



- Neutrófilos < 1.500/mm<sup>3</sup> y/o plaquetas < 100.000/mm<sup>3</sup>.
- Prueba de embarazo en suero u orina positiva en mujeres en potencial de procrear.
- Nivel de TSH sensible anormal (> ULN o < LLN) según los valores normales del laboratorio central
- Evidencia de insuficiencia renal como se ha determinado por:

- 5
  - Hombres: creatinina en suero > 1,5 x ULN.
  - Mujeres: creatinina en suero > 1,4 x ULN.
- ALT o AST > 2 x ULN.
- CPK > 3 x ULN (se permite 1 laboratorio de repetición).

- 10
  - Todas las contraindicaciones a la terapia de base exigida por el protocolo (es decir, atorvastatina) o advertencia/precaución de uso (cuando convenga) como se presenta en la ficha técnica nacional respectiva que se usó para definir estos criterios de exclusión.
  - Sensibilidad conocida a productos terapéuticos de anticuerpos monoclonales.
  - Mujeres embarazadas o dando de mamar.
  - Mujeres en potencial de procrear sin método anticonceptivo eficaz.

#### 15 Población de pacientes:

Las características demográficas e iniciales fueron generalmente similares a través de los grupos de tratamiento. La mediana de la edad de los pacientes fue 58,0 años (28,7 % de los pacientes tuvieron ≥ 65 años de edad) con pacientes de edades 24-75 años. El intervalo medio para C-LDL y C total iniciales entre los grupos de tratamiento fue similar y osciló entre 3,214 mmol/l y 3,500 mmol/l para C-LDL y entre 5,284 mmol/l y 5,521 mmol/l para C total. El IMC (kg/m<sup>2</sup>) fue entre 19,7 y 40,5 con un valor medio de 29,04 y una mediana del valor de 28,4 (teniendo el 63,6 % de los pacientes un IMC de <30 y teniendo el 36,4 % de los pacientes un IMC de >30). 80 (65,6 %) de los 122 pacientes tuvieron hiperlipoproteinemia tipo IIa (hipercolesterolemia familiar) según la clasificación de Fredrickson, 41 (33,6 %) tipo IIb (hiperlipidemia combinada) y 1 (0,8 %) tipo IV (hiperlipidemia endógena). En general, el 82 % de los pacientes habían recibido tratamiento previo con un agente hipolipemiente, mientras que el 22 % no.

#### 25 Duración del periodo de estudio por sujeto:

La duración de la participación en el estudio dependió del estado del paciente en la selección:

- Para los pacientes que reciben atorvastatina 10 mg, 20 mg o 40 mg a una dosis estable durante al menos 6 semanas antes de la selección, la participación en el estudio fue aproximadamente 21 semanas incluyendo un periodo de selección de 1 semana, un periodo de tratamiento de doble ciego de 12 semanas y un periodo de seguimiento de 8 semanas.
- Para los pacientes que reciben un tratamiento hipolipemiente distinto de atorvastatina/ o no a dosis estable de atorvastatina 10 mg, 20 mg o 40 mg durante al menos 6 semanas antes de la selección, o pacientes sin tratamiento previo con el fármaco, la participación en el estudio fue aproximadamente 27 semanas incluyendo un periodo de selección de 7 semanas (incluyendo un periodo de preinclusión de 6 semanas), un periodo de tratamiento de doble ciego de 12 semanas y un periodo de seguimiento de 8 semanas.

#### Compuestos activos:

##### Anticuerpo 316P:

El anticuerpo 316P es un anticuerpo completamente humano que comprende una HCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90 y LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 92 del listado de secuencias. Las secuencias de CDR se muestran en SEQ ID NO: 76, 78 y 80 (CDR1, CDR2, CDR3 de la cadena pesada), además de en SEQ ID NO: 84, 86 y 88 (CDR1, CDR2, CDR3 de la cadena ligera).

##### Anticuerpo 300N:

El anticuerpo 300N es un anticuerpo completamente humano que comprende una HCVR como se muestra en SEQ ID NO: 218 y LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 226 del listado de secuencias. Las secuencias de CDR se muestran en SEQ ID NO: 220, 222, y 224 (CDR1, CDR2, CDR3 de la cadena pesada), además de en SEQ ID NO: 228, 230 y 232 (CDR1, CDR2, CDR3 de la cadena ligera).

#### Brazos del estudio:

Brazo 1: El primer grupo de pacientes recibió dos inyecciones de 1 ml cada una de anticuerpo 316P, administrada por vía subcutánea en el abdomen, con una pauta de dosis a 50 mg, cada dos semanas, durante un periodo de tratamiento de 12 semanas;

5 Se administró atorvastatina una vez por día a una dosis estable de 10 mg, 20 mg o 40 mg como terapia de fondo.

Brazo 2: El segundo grupo de pacientes recibió dos inyecciones de 1 ml cada una de anticuerpo 316P, administrada por vía subcutánea en el abdomen, con una pauta de dosis a 100 mg, cada dos semanas, durante un periodo de tratamiento de 12 semanas;

10 Se administró atorvastatina una vez por día a una dosis estable de 10 mg, 20 mg o 40 mg como terapia de fondo.

Brazo 3: El tercer grupo de pacientes recibió dos inyecciones de 1 ml cada una de anticuerpo 316P, administrada por vía subcutánea en el abdomen, con una pauta de dosis a 150 mg, cada dos semanas, durante un periodo de tratamiento de 12 semanas;

15 Se administró atorvastatina una vez por día a una dosis estable de 10 mg, 20 mg o 40 mg como terapia de fondo.

Brazo 4: El cuarto grupo de pacientes recibió dos inyecciones de 1 ml cada una de una disolución de placebo, administrada por vía subcutánea en el abdomen, cada dos semanas, durante un periodo de tratamiento de 12 semanas;

Se administró atorvastatina una vez por día a dosis estable de 10 mg, 20 mg o 40 mg como terapia de fondo.

20 Brazo 5: El quinto grupo de pacientes recibió dos inyecciones de 1 ml cada una de anticuerpo 316P, administrada por vía subcutánea en el abdomen, con una pauta de dosis a 200 mg, cada cuatro semanas, durante un periodo de tratamiento de 12 semanas;

25 Se administró una disolución de placebo alternando con la administración de anticuerpo 316P de manera que el paciente tuviera el mismo esquema de inyección que los pacientes en los brazos 1 a 4, es decir, el paciente recibió dos inyecciones de 1 ml cada una de una disolución de placebo en las semanas 2, 6, y 10 y dos inyecciones de 1 ml cada una de anticuerpo 316P en las semanas 0, 4, 8 y 12;

Se administró atorvastatina una vez por día a una dosis estable de 10 mg, 20 mg o 40 mg como terapia de fondo.

30 Brazo 6: El sexto grupo de pacientes recibió dos inyecciones de 1 ml cada una de anticuerpo 316P, administrada por vía subcutánea en el abdomen, con una pauta de dosis a 300 mg, cada cuatro semanas, durante un periodo de tratamiento de 12 semanas;

35 Se administró una disolución de placebo alternando con la administración de anticuerpo 316P de manera que el paciente tuviera el mismo esquema de inyección que los pacientes en los brazos 1 a 4, es decir, el paciente recibió dos inyecciones de 1 ml cada una de una disolución de placebo en las semanas 2, 6 y 10 y dos inyecciones de 1 ml cada una de anticuerpo 316P en las semanas 0, 4, 8 y 12;

Se administró atorvastatina una vez por día a una dosis estable de 10 mg, 20 mg o 40 mg como terapia de fondo.

Criterios de valoración primarios y secundarios clave:

40 La variable de eficacia primaria es el porcentaje de variación en C-LDL calculado desde el nivel inicial hasta la Semana 12, que se define como:  $100 \times (\text{valor de C-LDL calculado en la Semana 12} - \text{valor de C-LDL calculado en el nivel inicial}) / \text{valor de C-LDL calculado en el nivel inicial}$ .

45 En caso de valor de C-LDL calculado no disponible en la Semana 12 como se ha definido anteriormente, entonces se usará el último valor de C-LDL calculado medido durante el periodo de eficacia y antes de la ventana de tiempo de la Semana 12 para atribuir el valor de C-LDL calculado de la Semana 12 ausente (procedimiento de arrastre del último dato [LOCF]).

Los criterios de valoración de eficacia secundarios son:

La variación absoluta (mmol/l y mg/dl) desde el nivel inicial en C-LDL calculado hasta la Semana 12, definido como:  $(\text{valor de C-LDL calculado en la Semana 12} - \text{valor de C-LDL calculado en el nivel inicial})$ , usando las mismas definiciones y reglas de atribución que para el criterio de valoración primario.

El porcentaje de pacientes con C-LDL calculado <70 mg/dl (1,81 mmol/l) y <100 mg/dl (2,59 mmol/l) en la Semana 12.

5 Porcentaje de variación en ApoB desde el nivel inicial hasta la Semana 12: mismas definiciones y reglas que para C-LDL, excepto por el valor inicial que será el valor de ApoB medido en la visita de aleatorización (Visita 2) y antes de la primera inyección IP, o, si falta, el último valor sin programar obtenido de la Visita 1 (Semana-1) hasta antes de la primera inyección IP.

Porcentaje y variación absoluta (mmol/l y mg/dl) en C-no HDL desde el nivel inicial hasta la Semana 12: mismas definiciones y reglas que para C-LDL.

10 Porcentaje y variación absoluta (mmol/l y mg/dl) en triglicéridos en ayunas desde el nivel inicial hasta la Semana 12: mismas definiciones y reglas que para C-LDL, excluyendo mediciones en pacientes no en ayunas o mediciones con estado de ayunas ausente.

Porcentaje de variación en ApoA-1 desde el nivel inicial hasta la Semana 12: mismas definiciones y reglas que para AboB.

15 Variación absoluta en la relación AboB/ApoA-1 desde el nivel inicial hasta la Semana 12: mismas definiciones y reglas que para AboB.

Porcentaje de la variación en Lp(a) desde el nivel inicial hasta la Semana 12: mismas definiciones y reglas que para ApoB. En el caso de valor de Lp(a) por debajo del límite de detección, se usará un valor a la mitad de camino entre cero y el límite de detección para el cálculo

Resultados:

20 Eficacia del tratamiento de 316P sobre la reducción del nivel de C-LDL

Tabla 1 - C-LDL en mmol/l (mg/dl) en la Semana 12

Colesterol de LDL mmol/l (mg/dl)	Placebo	50 mg E2W	200 mg E4W	100 mg E2W	300 mg E4W	150 mg E2W
Número de pacientes	N=20	N=19	N=20	N=20	N=21	N=18
Nivel inicial						
Media	3,489 (134,7)	3,214 (124,1)	3,318 (128,1)	3,422 (132,1)	3,500 (135,1)	3,238 (125,0)
Mediana	3,134 (121)	3,121 (120,5)	3,225 (124,5)	3,225 (124,5)	3,250 (125,5)	3,121 (120,5)
Semana 12						
Media	3,173 (122,5)	1,859 (71,8)	1,722 (66,5)	1,251 (48,3)	1,766 (68,2)	0,860 (33,2)
Mediana	3,121 (120,5)	1,813 (70,0)	1,567 (60,5)	1,101 (42,5)	1,632 (63,0)	0,984 (38,0)
Semana 12 - variación con respecto al nivel inicial						
Media	-0,317 (-12,2)	-1,355 (-52,3)	-1,595 (-61,6)	-2,171 (-83,8)	-1,733 (-66,9)	-2,378 (-91,8)
Mediana	-0,265 (-10,3)	-1,295 (-50,0)	-1,593 (-61,5)	-2,117 (-81,8)	-1,904 (-73,5)	-2,363 (-91,3)
Semana 12 - % variación con respecto al nivel inicial						
Media	-6,08	-41,06	-47,23	-63,90	-48,29	-72,68
Mediana	-6,92	-37,04	-49,46	-64,28	-51,98	-74,83

Se observaron disminuciones estadísticamente significativas en el porcentaje de variación con respecto al nivel inicial en C-LDL a las 12 semanas en todos los grupos en comparación con el grupo de placebo. Se observó la

mayor disminución en los grupos de 100 mg E2W (-63,90 %) y 150 mg E2W (-72,68 %) en comparación con una ligera disminución en el grupo de placebo (-6,08 %) (diferencia media de LS frente a placebo del -58,36 % y -68,78 %, respectivamente); estas disminuciones observadas después de la primera inyección se mantuvieron durante todo el estudio y más particularmente durante todo el periodo de intervalo entre las inyecciones. También se observaron grandes disminuciones desde el nivel inicial en C-LDL a las 12 semanas en el grupo de 200 mg y 300 mg E4Ws (-47,23 % y 48,29 %, respectivamente con una diferencia media de LS frente a placebo del -42,53 % y -42,26 %) con también disminución significativa de al menos aproximadamente el -40 % durante los periodos de intervalo. De entre los 18 pacientes en el grupo de 150 mg E2W, 17 tuvieron una reducción de C-LDL desde el nivel inicial > 50 % en la Semana 12.

#### 10 Efectos del tratamiento de 316P sobre otros criterios de valoración de la eficacia clave

	Placebo	50 mg E2W	200 mg E4W	100 mg E2W	300 mg E4W	150 mg E2W
Número de pacientes	N=20	N=19	N=20	N=20	N=21	N=18
Colesterol mmol/l						
Nivel inicial						
Media	5,521	5,286	5,305	5,386	5,416	5,388
Mediana	5,458	5,232	5,394	5,199	5,180	5,361
Semana 12						
Media	5,378	3,974	3,709	3,288	3,778	2,922
Mediana	5,258	3,937	3,587	3,238	3,393	2,823
Semana 12 - variación con respecto al nivel inicial						
Media	-0,143	-1,313	-1,596	-2,098	-1,638	-2,466
Mediana	-0,188	-1,399	-1,716	-2,163	-2,020	-2,331
Semana 12						
% de variación con respecto al nivel inicial						
Media	-1,47	-24,21	-29,54	-38,97	-29,61	-45,21
Mediana	-3,73	-23,34	-29,51	-40,21	-33,48	-45,03
Colesterol no HDL (mmol/l)						
Semana 12						
% de variación con respecto al nivel inicial						
Media	-2,29	-35,23	-40,07	-54,78	-41,17	-63,71
Mediana	-4,71	-36,62	-39,91	-55,91	-45,55	-65,94

Se observaron resultados coherentes (disminución) para C total, ApoB, C-no HDL. Para HDL-C hubo una tendencia de aumento en todos los grupos, se observó un patrón similar para ApoA-1. El anticuerpo 316P fue bien tolerado durante las 12 semanas de tratamiento en todas las dosis / pautas de dosis probadas. Significativamente, no se observó cambio en los niveles de troponinas en ninguno de los grupos de tratamiento.

#### Conclusión:

Los resultados de este estudio mostraron que las pautas posológicas con los esquemas de administración E2W o E4W y diferentes dosis del anticuerpo anti-PCSK 9 316P como se usa en este estudio son terapias eficientes y seguras para reducir los niveles de C-LDL en pacientes con hiperlipoproteinemia y o hiperlipidemia y así para el tratamiento de hiperlipoproteinemia y/o hiperlipidemia. Se lograron los mejores resultados globales usando la pauta posológica de 150 mg E2W. Sin embargo, teniendo en cuenta la comodidad del paciente en solo obtener tratamientos de anticuerpo una vez al mes, también ambas pautas posológicas de E4W probadas en el presente estudio proporcionaron resultados muy buenos.

## Estudio 2

Éste fue un estudio de 8 semanas aleatorizado, de doble ciego, de 3 grupos paralelos, controlado por placebo, dosis fija/ pauta de dosis, multicéntrico, en sujetos con hipercolesterolemia primaria, de edades 18-75 años. Un objetivo de este estudio era evaluar la eficacia y seguridad de 316P en pacientes con un elevado C-LDL ( $\geq 100$  mg/dl o 2,59 mmol/l) tratados con una dosis estable de atorvastatina 10 mg.

Durante el periodo de selección, los pacientes tuvieron que estabilizarse a atorvastatina 10 mg durante al menos 6 semanas, si ya no están. Entonces, después de 1 semana de selección adicional, los pacientes se aleatorizaron centralmente mediante IVRS/IWRS en una relación 1:1:1 a uno de los 3 grupos de tratamiento (placebo para 316P + atorvastatina 80 mg, 316P 150 mg E2W + atorvastatina 80 mg, 316P 150 mg E2W + atorvastatina 10 mg) y se trataron en un modo de de doble ciego durante aproximadamente 8 semanas. Se administró 316P cada 2 semanas *in situ* mediante inyección subcutánea y se administró atorvastatina por vía oral una vez al día por la tarde en casa. El periodo de tratamiento de doble ciego fue entonces seguido de un periodo de tratamiento de 8 semanas.

Se reclutaron aproximadamente 90 pacientes (30 pacientes por grupo de tratamiento) y se aleatorizaron de aproximadamente 20 sitios.

## Objetivos

## Objetivo primario

Evaluar el efecto de 316P sobre los niveles de colesterol de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) en comparación con el placebo cuando se co-administra con 80 mg de atorvastatina después de 8 semanas de tratamiento en pacientes con C-LDL  $\geq 100$  mg/dl ( $\geq 2,59$  mmol/l) con atorvastatina 10 mg.

## Objetivo secundario

Los objetivos secundarios clave presentados en este KRM son:

- Evaluar los efectos de 316P sobre otros niveles de lípidos en comparación con placebo, cuando se co-administra con 80 mg de atorvastatina después de 8 semanas de tratamiento
- Evaluar la eficacia de 316P cuando se co-administra con una alta dosis de atorvastatina (80 mg) frente a atorvastatina 10 mg
- Evaluar la seguridad y tolerabilidad de 316P cuando se co-administra con 2 dosis diferentes de atorvastatina
- Evaluar los efectos de 316P sobre otros criterios de valoración exploratorios: glucosa en plasma en ayunas, hemoglobina glicosilada A1c (HbA1c), proteína C reactiva de alta sensibilidad (hs-CRP).

## Selección de pacientes:

## Criterios de inclusión:

- Pacientes (los pacientes que reciben un tratamiento hipolipemiante distinto de atorvastatina/ o no a dosis estable de atorvastatina 10 mg durante al menos 6 semanas antes del periodo de selección, o pacientes sin tratamiento previo con el fármaco) con hipercolesterolemia primaria que probablemente tengan colesterol de lipoproteína de baja densidad (C-LDL)  $\geq 100$  mg/dl ( $\geq 2,59$  mmol/l) al final del periodo de preinclusión con terapia de atorvastatina (Semana -1).

O

- Pacientes con hipercolesterolemia primaria tratados con dosis estable de atorvastatina 10 mg durante al menos 6 semanas antes del periodo de selección y que probablemente tengan colesterol de lipoproteína de baja densidad (C-LDL)  $\geq 100$  mg/dl ( $\geq 2,59$  mmol/l) en la visita de selección (Semana -1).

## Criterios de exclusión:

- C-LDL  $< 100$  mg/dl ( $< 2,59$  mmol/l) en la Semana -1 (V1):
  - Después del periodo de preinclusión con atorvastatina 10 mg para los pacientes que reciben un tratamiento hipolipemiante distinto de atorvastatina/ o no a dosis estable de atorvastatina 10 mg durante al menos 6 semanas antes del periodo de selección, o pacientes sin tratamiento previo con el fármaco.

O

- En la primera visita para pacientes que están tratándose con atorvastatina 10 mg a dosis estable durante al menos 6 semanas antes de la Semana -1 de la visita de selección.

- Índice de masa corporal (IMC)  $< 18$  o  $> 40$  kg/m<sup>2</sup> en la Semana -7 o Semana -1.
  - Pacientes no previamente aconsejados sobre una dieta hipocolesterolémica.
  - Uso de una estatina distinta de atorvastatina 10 mg, o uso de otros fármacos hipolipemiantes que incluyen fibratos, resinas de ácidos biliares, niacina  $> 500$  mg, bloqueantes de la absorción de colesterol intestinal (ICA) o ácidos grasos omega-3 a dosis  $> 1000$  mg durante el periodo de selección.
- 5
- Pacientes con diabetes de tipo 1.
  - Pacientes con diabetes de tipo 2 tratados con insulina.
  - Pacientes con diabetes de tipo 2 y con un HbA1c  $\geq 8,5$  % en la Semana -7 o Semana -1 (considerados poco controlados).
- 10
- Datos de laboratorio medidos antes de la aleatorización:
    - Prueba positiva para antígeno de superficie de la hepatitis B y/o anticuerpo contra la hepatitis C.
    - Triglicéridos (TG)  $> 350$  mg/dl ( $> 3,95$  mmol/l) en la Semana -7 o Semana -1.
    - Neutrófilos  $< 1.500/\text{mm}^3$  y/o plaquetas  $< 100.000/\text{mm}^3$ .
    - Prueba de embarazo en suero u orina positiva en mujeres en potencial de procrear.
- 15
- Nivel de TSH sensible anormal ( $> \text{ULN}$  o  $< \text{LLN}$ ) según los valores normales del laboratorio central.
  - Evidencia de insuficiencia renal como se ha determinado por:
    - Hombres: creatinina en suero  $> 1,5 \times \text{ULN}$ .
    - Mujeres: creatinina en suero  $> 1,4 \times \text{ULN}$ .
  - ALT o AST  $> 2 \times \text{ULN}$  (se permite 1 laboratorio de repetición).
- 20
- CPK  $> 3 \times \text{ULN}$  (se permite 1 laboratorio de repetición).
  - Todas las contraindicaciones a la terapia de base exigida por el protocolo (es decir, atorvastatina) o advertencia/precaución de uso (cuando convenga) como se presenta en la ficha técnica nacional respectiva que se usó para definir estos criterios de exclusión.
  - Sensibilidad conocida a fármacos terapéuticos de anticuerpos monoclonales.
- 25
- Mujer embarazada o dando de mamar.
  - Mujeres en potencial de procrear sin método anticonceptivo eficaz.

Duración del periodo de estudio por sujeto:

La duración de la participación en el estudio dependerá del estado del paciente en la selección:

- Para los pacientes que reciben atorvastatina 10 mg a dosis estable durante al menos 6 semanas antes de la selección, la participación en el estudio será aproximadamente 17 semanas que incluyen un periodo de selección de 1 semana, un periodo de tratamiento de doble ciego de 8 semanas y un periodo de seguimiento de 8 semanas (véase la Fig. 5).
  - Para los pacientes que reciben un tratamiento hipolipemiente distinto de atorvastatina/ o no a dosis estable de atorvastatina 10 mg durante al menos 6 semanas antes de la selección, o pacientes sin tratamiento previo con el fármaco, la participación en el estudio será aproximadamente 23 semanas con un periodo de selección de 7 semanas (incluyendo un periodo de preinclusión de 6 semanas), un periodo de tratamiento de doble ciego de 8 semanas y un periodo de seguimiento de 8 semanas (véase la Fig. 4).
- 30
- 35

Compuestos activos:

Anticuerpo 316P

- 40
- El anticuerpo 316P es un anticuerpo completamente humano que comprende una HCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90 y LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 92 del listado de secuencias. Las secuencias de CDR se muestran en SEQ ID NO: 76, 78 y 80 (CDR1, CDR2, CDR3 de la cadena pesada), además de en SEQ ID NO: 84, 86 y 88 (CDR1, CDR2, CDR3 de la cadena ligera).

## Anticuerpo 300N

El anticuerpo 300N es un anticuerpo completamente humano que comprende una HCVR como se muestra en SEQ ID NO: 218 y LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 226 del listado de secuencias. Las secuencias de CDR se muestran en SEQ ID NO: 220, 222 y 224 (CDR1, CDR2, CDR3 de la cadena pesada), además de en SEQ ID NO: 228, 230 y 232 (CDR1, CDR2, CDR3 de la cadena ligera).

## Brazos del estudio:

Brazo 1: El primer grupo de pacientes recibe una inyección subcutánea de 1 ml de anticuerpo 316P, administrada en el abdomen cada dos semanas, con una pauta de dosis a 150 mg, para un periodo de tratamiento de doble ciego de 8 semanas;

Se administra atorvastatina una vez por día a una dosis estable de 10 mg como terapia de fondo.

Se administra atorvastatina a una dosis de 80 mg una vez durante el periodo de tratamiento de doble ciego de 8 semanas.

Brazo 2: El segundo grupo de pacientes recibe una inyección subcutánea de 1 ml de una disolución de placebo, administrada en el abdomen cada dos semanas, con una pauta de dosis a 150 mg, para un periodo de tratamiento de doble ciego de 8 semanas;

Se administra atorvastatina una vez por día a una dosis estable de 10 mg como terapia de fondo.

Se administra atorvastatina a una dosis de 80 mg (2 comprimidos de 40 mg de atorvastatina con encapsulado adicional) una vez durante el periodo de tratamiento de doble ciego de 8 semanas.

Brazo 3: El tercer grupo de pacientes recibe una inyección subcutánea de 1 ml de anticuerpo 316P, administrada en el abdomen cada dos semanas, con una pauta de dosis a 150 mg, para un periodo de tratamiento de doble ciego de 8 semanas;

Se administra atorvastatina una vez por día a una dosis estable de 10 mg como terapia de fondo.

Se administra atorvastatina a una dosis de 10 mg (1 comprimido de 10 mg de atorvastatina con encapsulado adicional + 1 comprimido de placebo de correspondencia) una vez durante el periodo de tratamiento de doble ciego de 8 semanas.

## Criterios de valoración primarios y secundarios clave

### Criterios de valoración primarios

La variable de eficacia primaria es el porcentaje de variación en C-LDL calculado desde el nivel inicial hasta la Semana 8, que se define como:  $100 \times (\text{valor de C-LDL calculado en la Semana 8} - \text{valor de C-LDL calculado en el nivel inicial}) / \text{valor de C-LDL calculado en el nivel inicial}$ .

En caso de valor de C-LDL calculado no disponible en la Semana 8 como se ha definido anteriormente, entonces se usó el último valor de C-LDL calculado medido durante el periodo de eficacia y antes de la ventana de tiempo de la Semana 8 para atribuir el valor de C-LDL calculado de la Semana 8 ausente (procedimiento de arrastre del último dato [LOCF]).

### Criterios de valoración secundarios clave

Las variables de eficacia secundarias son:

- La variación absoluta (mmol/l y mg/dl) desde el nivel inicial en C-LDL calculado hasta la Semana 8, definido como:  $(\text{valor de C-LDL calculado en la Semana 8} - \text{valor de C-LDL calculado en el nivel inicial})$
- El porcentaje de pacientes con C-LDL calculado  $< 70 \text{ mg/dl}$  ( $1,81 \text{ mmol/l}$ ) y  $< 100 \text{ mg/dl}$  ( $2,59 \text{ mmol/l}$ ) en la Semana 8
- Porcentaje de variación en ApoB desde el nivel inicial hasta la Semana 8
- Porcentaje y variación absoluta (mmol/l y mg/dl) en C-no HDL desde el nivel inicial hasta la Semana 8
- Porcentaje y variación absoluta (mmol/l y mg/dl) en colesterol total desde el nivel inicial hasta la Semana 8
- Porcentaje y variación absoluta (mmol/l y mg/dl) en HDL-C desde el nivel inicial hasta la Semana 8

- Porcentaje y variación absoluta (mmol/l y mg/dl) en triglicéridos en ayunas desde el nivel inicial hasta la Semana 8
- Porcentaje de variación en ApoA-1 desde el nivel inicial hasta la Semana 8
- Variación absoluta en la relación ApoB/ApoA-1 desde el nivel inicial hasta la Semana 8

- 5 • Porcentaje de variación en Lp(a) desde el nivel inicial hasta la Semana 8.

Suposiciones en el cálculo del tamaño de muestra

Se esperaba que el estudio enrolara aproximadamente 90 pacientes.

- 10 Para detectar una diferencia del 20 % en el porcentaje de variación de C-LDL desde el nivel inicial hasta la Semana 8 entre el grupo de 316P 150 mg + atorvastatina 80 mg y placebo para 316P + grupo de atorvastatina 80 mg, suponiendo una tasa del 5 % de criterio de valoración primario no evaluable, se estimó que 30 pacientes por brazo produjeron el 95 % de potencia, con una desviación estándar del 20 %, y usando una prueba de la t bilateral al nivel de significancia de 0,05.

Los cálculos se hicieron usando nQuery Advisor 6.01.

Métodos estadísticos

- 15 Poblaciones de análisis

Poblaciones de eficacia

La población del análisis de eficacia primario es la población por intención de tratar modificada (mITT).

Población por intención de tratar modificada

Población ITT modificada (mITT): Población aleatorizada con un criterio de valoración primario evaluable.

- 20 El criterio de valoración primario fue evaluable cuando se cumplen ambas de las siguientes condiciones:

- Disponibilidad de al menos un valor de C-LDL calculado a partir de la Visita 1 (Semana -1) y hasta antes de la primera inyección IP.
- Disponibilidad de al menos un valor de C-LDL calculado durante el periodo de eficacia y, en el plazo de o antes de la ventana de tiempo de la Semana 8.

- 25 Se analizaron pacientes en la población de mITT según el grupo de tratamiento asignado por aleatorización.

Población por protocolo

La población por protocolo (PP) es un subconjunto de la población de mITT, excluyendo los pacientes:

- con desviaciones importante del protocolo que afectan al nivel inicial de C-LDL o la evaluación de C-LDL en la Semana 8,
- 30 • que reciben terapia prohibida que posiblemente afecta los niveles de lípidos durante el periodo de pretratamiento o durante el periodo de eficacia antes de la evaluación del criterio de valoración primario
- con un mal cumplimiento con las administraciones IP de 316P.
- con un mal cumplimiento con atorvastatina no IP durante el periodo de pretratamiento o sin cumplimiento con atorvastatina IP durante los 3 días precedentes a la evaluación del criterio de valoración primario.

- 35 Población de seguridad

La población de seguridad se define como la población aleatorizada que en realidad recibió al menos una dosis o dosis parcial de 316P IP analizado según el tratamiento en realidad recibido. Los pacientes tratados sin ser aleatorizados no se considerarían como aleatorizados y no se incluirían en ninguna población. La experiencia de seguridad de pacientes tratados y no aleatorizados se informaría por separado.

- 40 Análisis de eficacia primaria

Se analizó el porcentaje de variación con respecto al nivel inicial en C-LDL calculado en la Semana 8-LOCF como se ha definido anteriormente en la población mITT usando un modelo de análisis de la covarianza (ANCOVA) con grupo



de tratamiento como el efecto fijo y C-LDL inicial como covariable. El factor de grupo de tratamiento tuvo tres niveles: placebo + atorvastatina 80 mg, 316P 150 mg E2W + atorvastatina 10 mg y 316P 150 mg E2W + atorvastatina 80 mg.

5 Durante todo el modelo ANCOVA, se comparó el grupo 316P 150 mg E2W + atorvastatina 80 mg con el grupo placebo + atorvastatina 80 mg usando contraste apropiado y se proporcionó el intervalo de confianza (IC) del 95 % de la diferencia.

No se realizó comparación formal con el grupo 316P 150 mg E2W + atorvastatina 10 mg: solo se proporcionó el 95 % de IC para diferencia frente a los otros brazos.

#### Análisis de eficacia secundaria clave

10 Se analizaron variables de eficacia secundaria continuas en la población mITT usando el mismo modelo ANCOVA que para el criterio de valoración primario. Para triglicéridos y LP(a) que se sabe que no tienen distribución gaussiana, se usó el método de ANCOVA basado en el rango.

Se analizaron variables de eficacia secundaria binaria en la población mITT usando un modelo de regresión logística condicional exacto con grupo de tratamiento y nivel de C-LDL inicial como efectos.

#### Análisis de seguridad

15 El análisis de seguridad se basó en acontecimientos adversos informados (AE) (si los hubo) y otra información de seguridad, tal como datos de laboratorio clínico, constantes vitales y ECG.

El periodo de TEAE se definió como el tiempo desde la primera inyección IP hasta la última inyección IP + 70 días (10 semanas).

Los AE de interés incluyeron los siguientes términos:

- 20
- Posible reacción del sitio de inyección (HLT "Reacciones del sitio de inyección")
  - Posibles acontecimientos alérgicos (HLGT "Afecciones alérgicas")
  - Pacientes con C-LDL <25 mg/dl (si los hay) o C-LDL <15 mg/dl (si los hay).

#### Otros análisis de evaluación

25 Otros criterios de valoración de evaluación definidos a continuación son variables exploratorias. Incluyen parámetros metabólicos e inflamatorios:

- Variación absoluta en HbA1c (%) desde el nivel inicial hasta la Semana 8
- Variación absoluta desde el nivel inicial en glucosa en plasma en ayunas (mmol/l) hasta la Semana 8
- Porcentaje de variación con respecto al nivel inicial en hs-CRP hasta la Semana 8.

30 Aquellos criterios de valoración se resumieron en la población m-ITT por momentos de tiempo usando estadística descriptiva. El perfil de tiempo (incluyendo el valor de LOCF) de cada parámetro también se representó por grupo de tratamiento con los errores estándar correspondientes.

También se resumió el criterio de PCSA para hs-CRP por grupo de tratamiento usando estadística descriptiva.

#### Resultados

35 El estudio 2 fue un estudio de 8 semanas multicéntrico, aleatorizado, de doble ciego, de grupos paralelos, controlado por placebo, realizado en los Estados Unidos para evaluar la eficacia y seguridad de 316P en pacientes con elevado colesterol de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) ( $\geq 100$  mg/dl o 2,59 mmol/l), tratados con una dosis estable de atorvastatina 10 mg durante al menos 6 semanas. Después del periodo de doble ciego de 8 semanas, los pacientes fueron seguidos durante un periodo de tratamiento de 8 semanas.

40 El objetivo primario del estudio era evaluar el efecto de 316P sobre los niveles de C-LDL en comparación con placebo cuando se co-administra con 80 mg de atorvastatina después de 8 semanas de tratamiento en pacientes con C-LDL  $\geq 100$  mg/dl ( $\geq 2,59$  mmol/l) previamente con atorvastatina 10 mg. La evaluación de la eficacia de la co-administración de 316P con esta alta dosis de atorvastatina (80 mg) en comparación con la co-administración de 316P con atorvastatina 10 mg fue uno de los objetivos secundarios. Se evaluó la pauta de dosis de 150 mg cada 2 semanas (E2W) en comparación con placebo.

45 Se realizaron análisis de eficacia en 88 pacientes (29 en el grupo de placebo + atorvastatina 80 mg, 29 en el grupo de 316P 150 mg + atorvastatina 10 mg y 30 en el grupo de 316P 150 mg + atorvastatina 80 mg).

Las características demográficas e iniciales fueron similares a través de los grupos de tratamiento. La mediana de la edad de los pacientes fue 58,0 años (25,0 % de pacientes tuvieron  $\geq 65$  años de edad). El nivel inicial medio de C-LDL y C total osciló entre 3,101 mmol/l y 3,288 mmol/l, y entre 5,447 mmol/l y 5,200 mmol/l, respectivamente.

#### Eficacia:

- 5 Se observó una disminución estadísticamente significativa en el porcentaje de variación con respecto al nivel inicial en C-LDL a las 8 semanas en el grupo de 316P 150 mg + atorvastatina 80 mg en comparación con el grupo de placebo + atorvastatina 80 mg (diferencia media de LS de -55,8 %;  $p < 0,0001$ ). Debido a la distribución no gaussiana y no homogeneidad de la varianza del criterio de valoración de eficacia primaria, también se realizó un análisis de sensibilidad usando análisis de la covarianza basado en el rango que mostró resultados similares:
- 10 estimación del tamaño del efecto de 316P 150 mg + atorvastatina 80 mg frente a placebo + atorvastatina 80 mg del -54,5 %,  $p < 0,0001$ . Se observaron grandes disminuciones desde el nivel inicial en ambos grupos de tratamiento donde 316P 150 mg se co-administró con atorvastatina, con una mediana de la reducción del -70,4 % para el grupo de 316P 150 mg + atorvastatina 10 mg y del -70,6 % para el grupo de 316P 150 mg + atorvastatina 80 mg en comparación con una mediana de la reducción del -26,9 % en el grupo de placebo + atorvastatina 80 mg.
- 15 Se observaron resultados coherentes para C total, ApoB, C-no HDL y relación Apo-B/ApoA-1. Para HDL-C, se observó un aumento en el porcentaje de variación con respecto al nivel inicial en ambos grupos de tratamiento donde 316P 150 mg se co-administró con atorvastatina 10 mg u 80 mg (media de LS + 2,6 %, y + 5,8 %, respectivamente) en comparación con una disminución en el grupo de placebo + atorvastatina 80 mg (media de LS -3,6 %).

#### 20 Seguridad:

316P fue bien tolerado durante las 8 semanas de tratamiento en todos los grupos de tratamiento. Significativamente, no se observó cambio en los niveles de troponinas en ninguno de los grupos de tratamiento.

#### Conclusión:

- 25 Hubo una disminución estadísticamente significativa en el porcentaje de variación con respecto al nivel inicial en C-LDL a las 8 semanas en el grupo de 316P 150 mg + atorvastatina 80 mg en comparación con el grupo de placebo + atorvastatina 80 mg (diferencia media de LS del -55,8 %;  $p < 0,0001$ ). Se observó una magnitud similar del efecto observado con 316P independientemente de la dosis de atorvastatina (10 mg u 80 mg) con una disminución sustancial en C-LDL cuando se co-administra a estas 2 dosis de atorvastatina.

- 30 Se observaron resultados coherentes para C total, ApoB, C-no HDL y relación Apo-B/ApoA-1. Para HDLC, hubo una tendencia de aumento en ambos grupos de tratamiento donde 316P 150 mg se co-administró con atorvastatina 10 mg u 80 mg.

316P 150 mg E2W fue bien tolerado durante las 8 semanas de tratamiento en todos los grupos de tratamiento. No se observó señal de seguridad particular.

- 35 Se confirmaron la eficacia de 316P 150 mg E2W, además de su buen perfil de seguridad, en este estudio independientemente de la dosis de atorvastatina administrada (10 mg u 80 mg).

#### Estudio 3

Éste es un ensayo clínico aleatorizado, de doble ciego, controlado por placebo, de múltiples dosis ascendentes, multicéntrico en sujetos con hipercolesterolemia primaria.

- 40 El objetivo de este estudio era determinar si un anticuerpo monoclonal completamente humano contra PCSK9 (316P) era eficaz y seguro como o bien un agente primario o adicional para reducir C-LDL en pacientes con hipercolesterolemia familiar heterocigótica (HeFH) u otras formas de hipercolesterolemia primaria (no FH). Se enrolaron en este ensayo clínico 61 adultos con ya fuera HeFH documentada ( $n=21$ ) o no FH ( $n=30$ ), con dieta más terapia de atorvastatina estable (atorvaRx) o no FH ( $n=10$ ) con dieta solo. Los sujetos con terapia de atorvastatina estable tuvieron C-LDL  $\geq 2,6$  mmol/l y aquellos con dieta solo tuvieron C-LDL  $\geq 3,4$  mmol/l. Se administró 316P a las dosis de 50, 100 y 150 mg por vía subcutánea (sc) a los 1, 29 y 43 días. El criterio de valoración primario fue la incidencia y gravedad de los acontecimientos adversos emergentes del tratamiento (TEAE). El criterio de valoración de eficacia primaria fue el porcentaje y la variación absoluta en suero C-LDL desde el nivel inicial hasta cada visita. Criterios de valoración adicionales incluyeron apolipoproteína (apo) B, colesterol total, HDL-C, VLDL-C, y la relación de apoB con respecto a apoA1. Se seleccionaron 109 pacientes, y se aleatorizaron 61 pacientes (14 a placebo, 47 a 316P) completando el 100 % de los 148  $\pm 7$  días de tratamiento y seguimiento. En comparación con la cohorte no FH, el grupo FH fue más joven (media 40 frente a 52 años), tuvo más varones (81 % frente al 57 %) y estuvo con dosis de atorvastatina más alta (52 % con 40 mg frente al 3 %). C-LDL inicial fue 3,45, 2,88 y 4,46 mmol/l en los grupos FH, no FH atorvaRx y no FH dieta solo, respectivamente. El tratamiento con 316P produjo reducciones en el % medio en C-LDL, además de las estatinas en el día 57 del 35,6 %, 50,2 % y 57,5 % a las dosis de 50, 100 y 150 mg, respectivamente, en las poblaciones de FH y no FH combinadas. Aunque no se realizó análisis estadístico,

no pareció haber diferencias en la respuesta entre FH y no FH o aquellos con o no con la terapia de estatinas. La respuesta a 316P se muestra en las Figuras 1, 2 y 3. Se observaron cambios favorables en HDL-C y apoA1. No se observaron graves acontecimientos adversos y el tratamiento fue generalmente bien tolerado. No se observaron efectos adversos relacionados con el fármaco sobre la prueba de la función hepática u otros parámetros de laboratorio.

Este primer ensayo de múltiples dosis de prueba de concepto de un inhibidor de PCSK9, en FH y no FH con terapia de estatinas estable, muestra que el tratamiento con un anticuerpo anti-PCSK9, tal como 316P, es una opción terapéutica prometedora para pacientes con o sin HeFH con colesterol elevado con la terapia de estatinas.

#### Estudio 4

Éste es un estudio animal sobre el efecto hipocolesterolemizante de 316P, un anticuerpo monoclonal bloqueante contra PCSK9 completamente humano en hámster sirio macho.

#### Introducción

El receptor de LDL hepático (LDLR) es el componente clave para la homeostasis del colesterol. PCSK9 regula los niveles de LDLR hepático potenciando su degradación. La transcripción de tanto LDLR como PCSK9 está regulada por incremento por estatinas mediante SREBP-2, limitando así el grado al que las estatinas pueden reducir el colesterol de LDL (C-LDL) en seres humanos e incluso más en roedores donde las estatinas no son eficaces en reducir C-LDL.

#### Objetivo

El objetivo de este estudio era investigar el efecto de 316P, un anticuerpo monoclonal humano contra PCSK9 humana, solo y en combinación con estatinas sobre la expresión de LDLR hepático y los efectos resultantes sobre C-LDL en suero.

#### Resultados

En hámster, una única inyección s.c. de 316P (1/3/10 mg/kg) produjo una disminución dependiente de la dosis en C-LDL que duró más de 2 semanas. Se observó el máximo efecto sobre C-LDL (-17/-27/-60 %) en el plazo de 7 días. Los datos PC de 316P están en línea con el efecto dependiente de la dosis sobre C-LDL. El tratamiento con atorvastatina hasta la máxima dosis tolerada no tiene efecto sobre la expresión de LDLR hepático y no disminuyó C-LDL. 316P, además de atorvastatina, pudo vencer la resistencia a estatinas, elevada expresión de LDLR y reducido C-LDL en suero. El tratamiento de combinación fue más eficaz que el tratamiento individual con 316P solo, aunque la atorvastatina sola no tuvo efecto.

#### Conclusión

La inhibición de PCSK9 produjo reducción de C-LDL relacionada con la dosis en hámsteres. Sin embargo, cuando se administró en combinación con una dosis normalmente ineficaz de atorvastatina, se observó una reducción potenciada en C-LDL. Estos datos sugieren que la neutralización de PCSK9 es eficaz en vencer la resistencia a estatinas observada en el modelo de hámster. Estos datos son según los resultados de un estudio en fase I en seres humanos, donde la reducción de C-LDL superó el 60 % y duró durante 30 días tras una única administración i.v. Esto confirma que el hámster es un modelo adecuado para investigar fármacos dirigidos a PCSK9.

#### Estudio 5

Éste es un estudio aleatorizado, de doble ciego, controlado por placebo, no equilibrado (2:1, 316P:placebo), de grupos paralelos con una extensión de etiqueta abierta.

#### Objetivo(s)

El objetivo primario de este estudio es evaluar la seguridad y la tolerabilidad a largo plazo de 316P durante el periodo de tratamiento principal en pacientes hipercolesterolémicos en riesgo de enfermedad cardiovascular no adecuadamente controlada con su tratamiento hipolipemizante.

Los objetivos secundarios son

- Evaluar la seguridad y tolerabilidad a largo plazo de 316P durante la duración completa del estudio.
- Evaluar el efecto de 316P sobre los niveles de colesterol de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) después de 12 semanas de tratamiento en comparación con placebo.
- Evaluar la eficacia a largo plazo de 316P sobre los niveles de colesterol de lipoproteína de baja densidad (C-LDL).

- Evaluar el efecto de 316P sobre el colesterol total (TC), colesterol no de lipoproteína de alta densidad (C-no HDL), apolipoproteína B (ApoB), HDL-C, triglicéridos (TG), apolipoproteína A-1 (ApoA-1), relación ApoB/ApoA-1 y lipoproteína a (Lp (a)) después de 12 semanas de tratamiento en comparación con placebo y después del tratamiento a largo plazo
- 5
- Evaluar el desarrollo de anticuerpos anti-316P.
  - Evaluar la farmacocinética (PC) de 316P.
  - Explorar el efecto de 316P sobre los acontecimientos cardiovasculares adjudicados durante el periodo de tratamiento principal en comparación con placebo y durante la duración completa del estudio.

#### Diseño del estudio

- 10 Los pacientes se estratificarán según población de hipercolesterolemia familiar heterocigótica (heFH), historia previa de infarto de miocardio (MI) o accidente cerebrovascular, terapia de estatinas de alta intensidad (es decir, atorvastatina 40 a 80 mg diariamente o rosuvastatina 20 a 40 mg diariamente) y región geográfica. Los pacientes aleatorizados a 316P recibirán 150 mg subcutáneos (sc) cada 2 semanas. Esta dosis/pauta de dosis, evaluada en el programa de fase 1, también es una de las dosis/pautas de dosis que se evalúa en el programa de fase 2. Para el
- 15 presente estudio, se ha seleccionado la administración de 150 mg subcutáneos cada 2 semanas como la dosis/pauta de dosis que proporciona la exposición sistémica más alta a 316P en el intervalo de dosis/pautas que es probable que sea eficaz. Esta dosis y pauta pueden ajustarse, si se necesita, a un dosis/frecuencia de dosis diferente durante la evolución del estudio, a través de una enmienda del protocolo, cuando esté disponible el conjunto de datos completo del hallazgo de dosis/pauta.
- 20 El estudio consiste en:
- Un periodo de selección de hasta 2 semanas, que incluye una visita intermedia durante la que el paciente u otra persona designada (tal como esposa, pariente, etc.) serán adiestrados para autoinyectarse/inyectar el placebo.
- 25
- Un periodo de tratamiento de estudio de doble ciego de 18 meses con 316P o placebo para todos los pacientes.
    - El periodo de tratamiento principal se define con el fin del análisis primario y este periodo termina 12 meses después de aleatorizar el último paciente en (LPI), e incluye pacientes con duración variable del tratamiento de doble ciego entre 12 meses y 18 meses.
- 30
- Un periodo de etiqueta abierta (OLP) que consiste en el tratamiento de estudio con 316P en pacientes que han completado el periodo de doble ciego de 18 meses. El OLP será de duración variable y termina para todos los pacientes a 24 meses después del LPI o 39 meses después del FPI, sea cual sea el primero.
  - Un periodo de seguimiento (fuera de tratamiento) de 8 semanas después del fin del periodo de etiqueta abierta.

Los pacientes serán instruidos para permanecer en una dieta estable (NCEP-ATPIII TLC o dieta equivalente) durante toda la duración del estudio completo desde la selección. La dosis de estatina, además de la dosis de otro(s) tratamiento(s) hipolipemiante(s) (si es aplicable), debe ser estable durante toda la duración del estudio completo. Durante el periodo de doble ciego, se permiten modificaciones en ciertas condiciones. Durante el periodo de etiqueta abierta, la modificación se basa en el criterio del investigador. No se permiten fibratos distintos de fenofibrato durante el estudio. Los parámetros lipídicos serán ciegos durante el periodo de doble ciego.

#### Población de estudio:

#### 40 Criterios de inclusión

Cualquiera de A o B a continuación Y no adecuadamente controlados con una dosis estable máximamente tolerada de estatina durante al menos 6 semanas antes de la visita de selección (Semana -2) con o sin otra terapia hipolipemiante (LLT).

A) Pacientes con hipercolesterolemia familiar heterocigótica (heFH)

45

O

B) Pacientes con hipercolesterolemia no familiar (no FH) con enfermedad cardíaca coronaria establecida (CHD) o equivalentes de riesgo de CHD

Nota:

- Toda la LLT de fondo, que incluye terapia distinta de estatinas, debe ser a una dosis estable durante al menos 6 semanas antes de la visita de selección (semana -2).
- 5 - Las únicas estatinas que son permisibles en la inclusión del estudio son simvastatina, atorvastatina y rosuvastatina tomadas diariamente.
- Los pacientes son elegibles para el estudio si están con estatina máximamente tolerada aunque ésta no sea estatina de alta intensidad. Estatina máximamente tolerada se define como cualquier dosis diaria de simvastatina, atorvastatina y rosuvastatina que es máximamente tolerada. Estatina de alta intensidad se define como atorvastatina 40 a 80 mg diariamente o rosuvastatina 20 a 40 mg diariamente.
- 10 - Si el paciente no está con estatina de alta intensidad durante la selección, entonces el motivo necesita ser documentado (es decir, mialgias, anomalías enzimáticas del hígado, etc.).
- Si C-LDL de selección (visita de la Semana -2) es  $\geq 160$  mg/dl (4,14 mmol/l), se debía haber ofrecido a los pacientes otra LLT en el pasado, además de su estatina máximamente tolerada. Además, si los pacientes están con terapia de estatinas máximamente toleradas solo, entonces el motivo necesita ser documentado; tales
- 15 - pacientes todavía son elegibles para el estudio y no se excluyen.
- No están permitidas dosis diarias por encima de simvastatina 80 mg, atorvastatina 80 mg o rosuvastatina 40 mg para la inclusión del estudio.
- Debe usarse simvastatina 80 mg solo en pacientes que han estado tomando esta dosis durante 12 meses o más sin evidencia de lesión muscular (miopatía) y no debe comenzarse en nuevos pacientes, que incluyen
- 20 - pacientes que ya toman dosis inferiores del fármaco.
- Prescripciones de otras LLT deben ser según la ficha técnica nacional.

Criterios de exclusión clave

- C-LDL  $< 70$  mg/dl ( $< 1,8$  mmol/l) en la visita de selección (Semana-2).
- TG  $> 350$  mg/dl ( $> 3,95$  mmol/l) en la visita de selección (Semana-2)
- 25 • Uso de fibratos distintos de fenofibrato en el plazo de 6 semanas antes de la visita de selección (Semana -2) o plan para recibirlo.

Número esperado total de pacientes:

Aproximadamente 2100 aleatorizados (1400:700, 316P:placebo)

Tratamiento(s) del estudio

- 30 Medicamento(s) en investigación: Anticuerpo 316P y placebo para 316P

El anticuerpo 316P es un anticuerpo completamente humano que comprende una HCVR como se muestra en SEQ ID NO: 90 y LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 92 del listado de secuencias. Las secuencias de CDR se muestran en SEQ ID NO: 76, 78 y 80 (CDR1, CDR2, CDR3 de la cadena pesada), además de en SEQ ID NO: 84, 86 y 88 (CDR1, CDR2, CDR3 de la cadena ligera).

- 35 Alternativamente, el estudio puede llevarse a cabo con el anticuerpo 300N (=compuesto de apoyo) en lugar del anticuerpo 316P. El anticuerpo 300N es un anticuerpo completamente humano que comprende una HCVR como se muestra en SEQ ID NO: 218 y LCVR como se muestra en SEQ ID NO: 226 del listado de secuencias. Las secuencias de CDR se muestran en SEQ ID NO: 220, 222, y 224 (CDR1, CDR2, CDR3 de la cadena pesada), además de en SEQ ID NO: 228, 230 y 232 (CDR1, CDR2, CDR3 de la cadena ligera).

- 40 Formulación

Jeringas precargadas: 316P 150 mg/ml, o placebo para 316P.

Vía(s) de administración:

- Subcutánea (SC)
- Volumen de inyección: 1 ml en total para la dosis de 150 mg
- 45 - Una inyección de 1 ml subcutánea en el abdomen, muslo, o área externa del brazo (es decir, región deltoide).

Pauta de dosis: Dosis de 150 mg cada 2 semanas

Criterio(s) de valoración primario(s) y secundario(s)

Criterios de valoración primarios:

- 5 Parámetros de seguridad (acontecimientos adversos [que incluyen acontecimientos cardiovasculares adjudicados], datos de laboratorio, constantes vitales y ECG) evaluados durante todo el periodo de tratamiento principal.

Principales criterios de valoración secundarios:

- Parámetros de seguridad (acontecimientos adversos [que incluyen acontecimientos cardiovasculares adjudicados], datos de laboratorio, constantes vitales y ECG) evaluados durante toda la duración del estudio completo
- 10 - El porcentaje de variación en C-LDL desde el nivel inicial hasta la Semana 12 (como momento principal).
- Anticuerpos anti-316P
- Concentraciones de 316P en suero

Programa de evaluación

Evaluaciones del paciente en el periodo de selección:

- 15 - Visitas *in situ*: Semana -2 (visita de selección), Semana -1 (visita de adiestramiento para inyección).

Evaluaciones del paciente en el periodo de doble ciego:

- Visitas *in situ*: Semana 0 (visita de aleatorización = nivel inicial), Semana 4, Semana 8, Semana 12, Semana 16, Semana 24, Semana 36, Semana 52/Mes 12, Semana 64/Mes 15, Semana 78/Mes 18 (final del periodo de doble ciego).
- 20 - Llamadas telefónicas: Semana 2\*, Semana 20, Semana 28, Semana 32, Semana 40, Semana 44, Semana 48, Semana 56, Semana 60, Semana 68, Semana 72 y Semana 76.

\* Nota: La Semana 2 podría producirse una visita *in situ* para un adiestramiento para inyección adicional con la inyección programada al paciente del kit del tratamiento de estudio doble ciego asignado por IVRS, según se necesite.

- 25 Evaluaciones del paciente en el periodo de etiqueta abierta:

- Visitas *in situ*: Cada 12 semanas después del final de la visita del periodo de doble ciego y hasta el final de la visita del periodo de etiqueta abierta.
- Llamadas telefónicas: Cada 4 semanas entre las visitas *in situ*.

- 30 Nota: Durante el transcurso del estudio, a través de las revisiones de seguridad en curso, el Comité de Control de Datos (DMC) evaluará la adecuación de la frecuencia de visitas y procedimientos correspondientes para el periodo de etiqueta abierta y realizará recomendaciones apropiadas.

Evaluaciones del paciente en el periodo de seguimiento:

- Visita *in situ*: 8 semanas después del final de la visita del periodo de etiqueta abierta.

Consideraciones estadísticas

- 35 Para la evaluación de seguridad, un tamaño de muestra de 2100 pacientes (relación de aleatorización 2:1, es decir, 316P: 1400 y placebo: 700) permitirá tener datos de seguridad a largo plazo en una base de datos amplia. Con este tamaño de muestra, se espera que 1050 y 364 pacientes sean expuestos a 316P durante un mínimo de 12 meses y 18 meses, respectivamente, en el momento del análisis primario (12 meses después de la entrada del último paciente). Además, con 1400 pacientes tratados con 316P, se detectarán acontecimientos con una tasa  $\geq 0,002$  con el 95 % de confianza.
- 40

Los factores de estratificación incluyen población heFH, historia previa de MI o accidente cerebrovascular, estatina de alta intensidad y región (América del Norte, Europa occidental, Europa del este, resto del mundo).

- 45 El resumen de variables de seguridad se realizará basándose en la población de seguridad. La población de seguridad consiste en la población aleatorizada que en realidad recibió al menos una dosis o dosis parcial del medicamento en investigación (IMP) analizado según el tratamiento en realidad recibido.

Se usará estadística descriptiva para el resumen de variables de seguridad de este estudio. Para acontecimientos adversos, además de las tablas resumen presentadas con tasas en bruto, se proporcionará la tabla de todos los TEAE usando las tasas de incidencia ajustadas a paciente-año. Si se detecta cualquier señal clínicamente significativa y se necesita caracterización adicional o para acontecimiento adverso o anomalía potencialmente clínicamente significativa (PCSA) de interés, se realizará un análisis de tiempo a acontecimiento usando metodología de Kaplan-Meier. Además, se proporcionará la frecuencia de acontecimiento adverso o PCSA de interés con el tiempo. El análisis de seguridad primario se hará en los acontecimientos de seguridad que pueden atribuirse a la administración de tratamiento de doble ciego durante el periodo de tratamiento principal. Se realizarán análisis de seguridad secundarios en los acontecimientos de seguridad observados durante el periodo de doble ciego y el periodo de etiqueta abierta.

La población para el análisis de la eficacia será la población con intención de tratar modificada (mITT), definida como la población ITT (es decir, población aleatorizada) con un criterio de valoración de C-LDL evaluable. Este criterio de valoración se considerará como evaluable cuando se cumplan ambas de las siguientes condiciones:

- Está disponible el valor de C-LDL inicial.
- Está disponible al menos un valor de C-LDL recogido en el periodo de eficacia principal.

El periodo de eficacia principal se definirá como:

- El tiempo desde la primera inyección de IMP (excluyendo la inyección de adiestramiento) hasta 21 días después de la última inyección IMP para pacientes que interrumpen permanentemente el IMP antes de la Semana 12.
- El tiempo desde la primera inyección IMP (excluyendo la inyección de adiestramiento) hasta la Semana 12 para pacientes que se trataron al menos 12 semanas.

Los pacientes de la población mITT se analizarán según el grupo de tratamiento asignado por aleatorización.

Se analizará el porcentaje de variación en C-LDL desde el nivel inicial hasta la Semana 12 (criterio de valoración secundario principal) y en otros momentos de tiempo durante todo el estudio (otros criterios de valoración secundarios) usando un modelo de análisis de la covarianza (ANCOVA) con grupo de tratamiento y cada factor de estratificación (población heFH, historia previa de MI o accidente cerebrovascular, estatina de alta intensidad, región) como efecto fijo y C-LDL inicial como covariable. El factor del grupo de tratamiento tendrá 2 niveles: placebo y 316P. Durante todo el modelo de ANCOVA, el grupo de 316P se comparará con el placebo usando contraste apropiado, y se proporcionará el 95 % de IC de la diferencia.

En caso de faltar el valor de C-LDL de la Semana 12 en el tratamiento, se usará el principio de arrastre del último dato (LOCF).

Duración del periodo de estudio (por paciente)

La duración del estudio para cada paciente es variable. La duración máxima del estudio incluye hasta 2 semanas de periodo de selección, tratamiento de estudio de 18 meses durante el periodo de doble ciego, hasta 21 meses de tratamiento con 316P en el periodo de etiqueta abierta (dependiendo de cuándo se aleatorizó el paciente en el estudio y la duración de reclutamiento) y 8 semanas de periodo de seguimiento. Así, la duración máxima del estudio es hasta ~ 42 meses para el primer paciente aleatorizado en el estudio y hasta ~ 27 meses para el último paciente aleatorizado en el estudio.

Estudio 6

Un ensayo aleatorizado, de doble ciego, multi-dosis, controlado por placebo, de 75 pacientes en pacientes con hipercolesterolemia familiar heterocigótica (heFH). En este ensayo, los pacientes deben cumplir los criterios de la Organización Mundial de la Salud para heFH, estar en una pauta de estatinas diaria estable durante al menos 6 semanas antes de entrar en el ensayo y tener niveles de C-LDL en suero  $\geq 100$  mg/dl. Se permitió que los pacientes tomaran ezetimiba, además de una estatina diaria. El criterio de valoración primario del estudio es la variación en el colesterol de LDL desde el nivel inicial en comparación con el placebo durante el periodo de estudio de 12 semanas.

Un análisis provisional del estudio 6 en pacientes con hipercolesterolemia familiar heterocigótica con colesterol elevado (C-LDL  $\geq 100$  mg/dl) con dosis estable de estatinas con o sin ezetimida demostró que los pacientes tratados con 316P cada dos o cuatro semanas lograron reducciones medias de C-LDL significativamente mayores a las 12 semanas en comparación con pacientes tratados con placebo. Los pacientes tratados con diferentes dosis de 316P lograron reducciones medias de C-LDL de aproximadamente el 30 % a superiores al 60 % desde el nivel inicial a las 12 semanas en comparación con una reducción del 10 % con placebo ( $p < 0,01$ ), que era el criterio de valoración primario del estudio. El análisis provisional se realizó cuando todos los pacientes completaron el criterio de valoración primario a las 12 semanas.

## REIVINDICACIONES

1. Método de preparación de una forma de dosificación unitaria que comprende administrar una cantidad de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 humana (PCSK9h) junto con un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las tres CDRs de la cadena pesada expuestas en SEQ ID NO: 76, 78, y 80 y las tres CDRs de la cadena ligera expuestas en SEQ ID NO: 84, 86, y 88, y  
5  
adaptar la composición farmacéutica como unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para administración humana, en la que la forma de dosificación unitaria comprende 75 mg, 150 mg o 300 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo.  
10
2. Método según la reivindicación 1, en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (HCVR) y la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (LCVR) expuestas SEQ ID NO: 90 y 92, respectivamente.
3. Método según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que la forma de dosificación unitaria comprende 75 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo.  
15
4. Método según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que la forma de dosificación unitaria comprende 150 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo.
5. Método según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que la forma de dosificación unitaria comprende 300 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo.
6. Método según una de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la forma de dosificación unitaria comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo como formulación líquida, tal como una disolución para inyección o infusión.  
20
7. Método según la reivindicación 6, en el que la formulación líquida está comprendida en un envase herméticamente sellado, tal como un vial, un sobre, una jeringa precargada, un auto-inyector precargado o un cartucho para una jeringa o aplicador reutilizable.  
25
8. Método según la reivindicación 7, en el que formulación líquida está comprendida en una jeringa precargada o un auto-inyector precargado.
9. Método según una de las reivindicaciones 6 a 8, en el que la formulación líquida es una disolución para inyección que comprende 75 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo por 1 ml de volumen.
10. Método según una de las reivindicaciones 6 a 8, en el que la formulación líquida es una disolución para inyección que comprende 150 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo por 1 ml de volumen.  
30
11. Método según una de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la forma de dosificación unitaria comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo como una formulación seca para disolución tal como un polvo liofilizado, polvo secado por congelación o concentrado sin agua.
12. Método según la reivindicación 11, en el que la formulación seca está comprendida en un envase herméticamente sellado tal como un vial, una ampolla o sobre.  
35
13. Método según una de las reivindicaciones 1 a 12, en el que la composición farmacéutica se formula para ser adecuada para la administración subcutánea.



Fig. 1

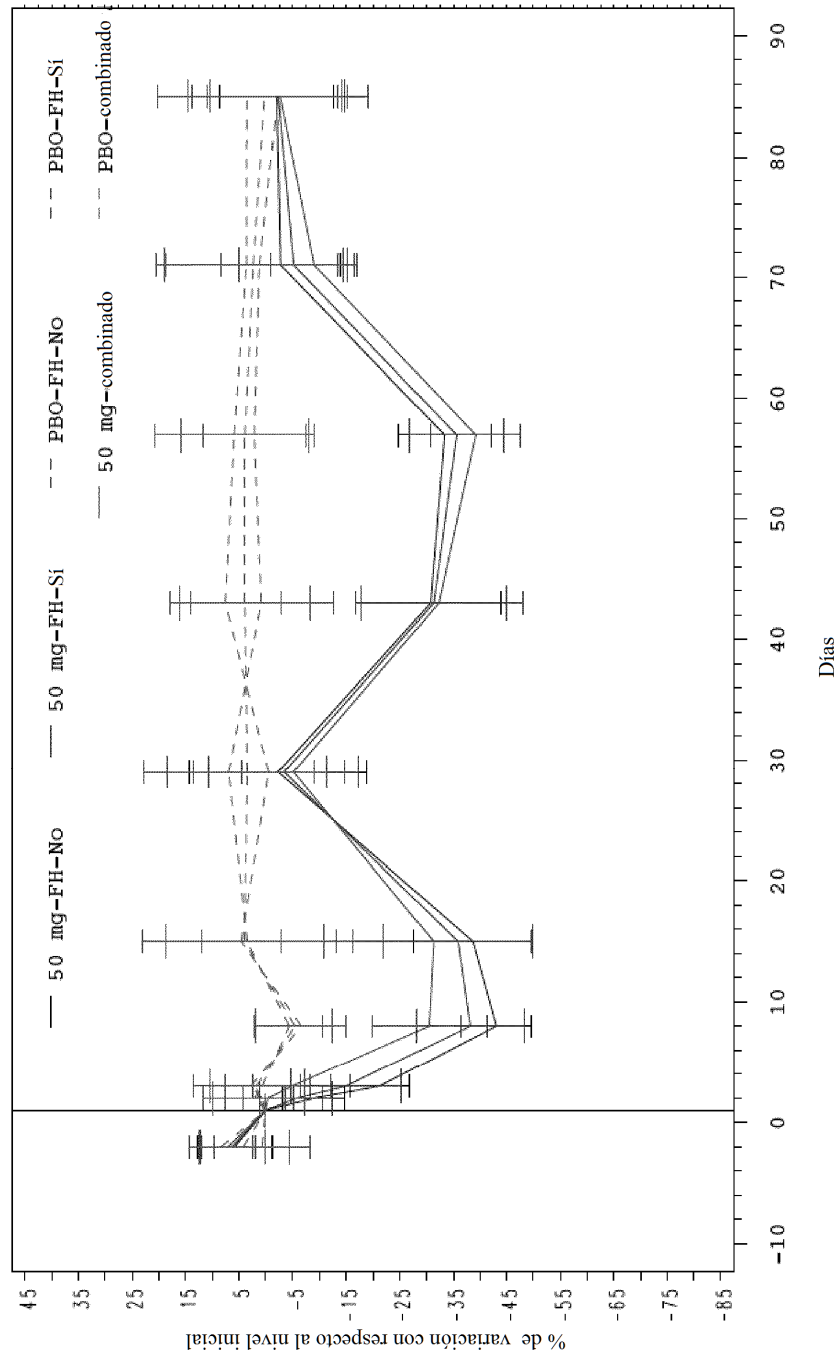


Fig. 2

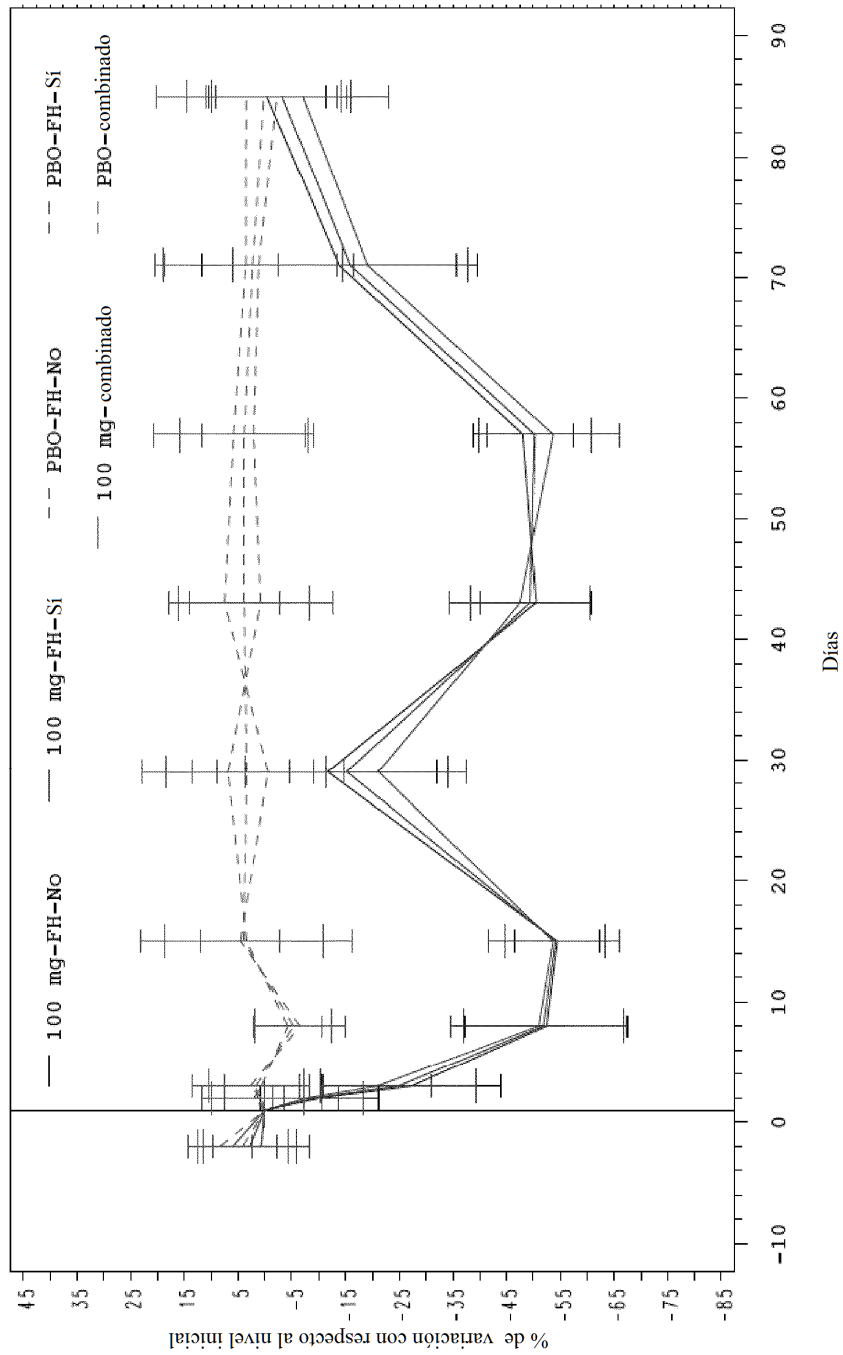


Fig. 3

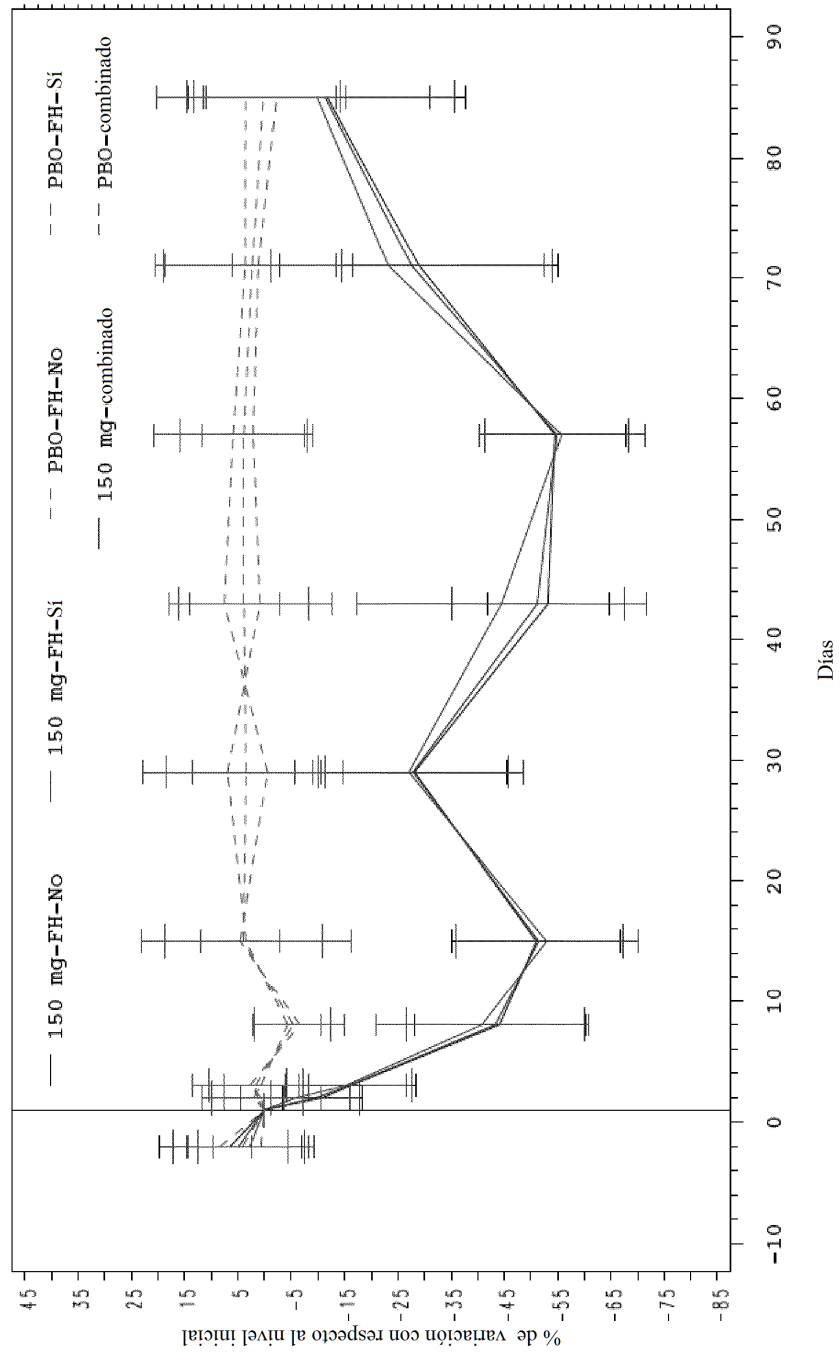


Fig. 4

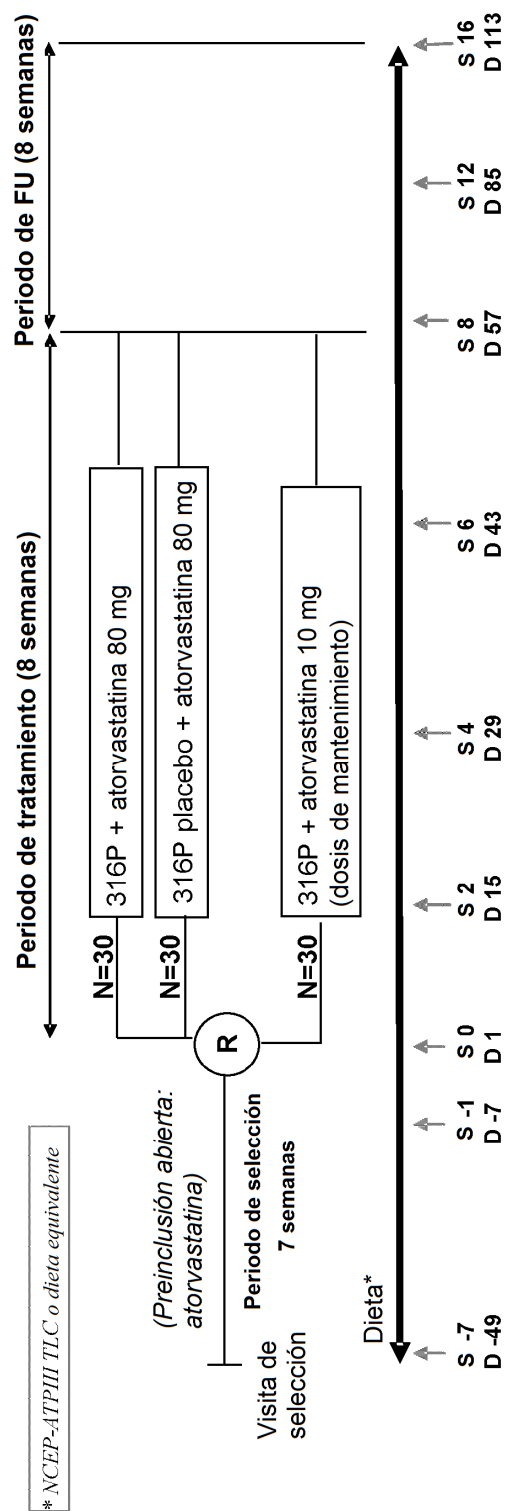


Fig. 5

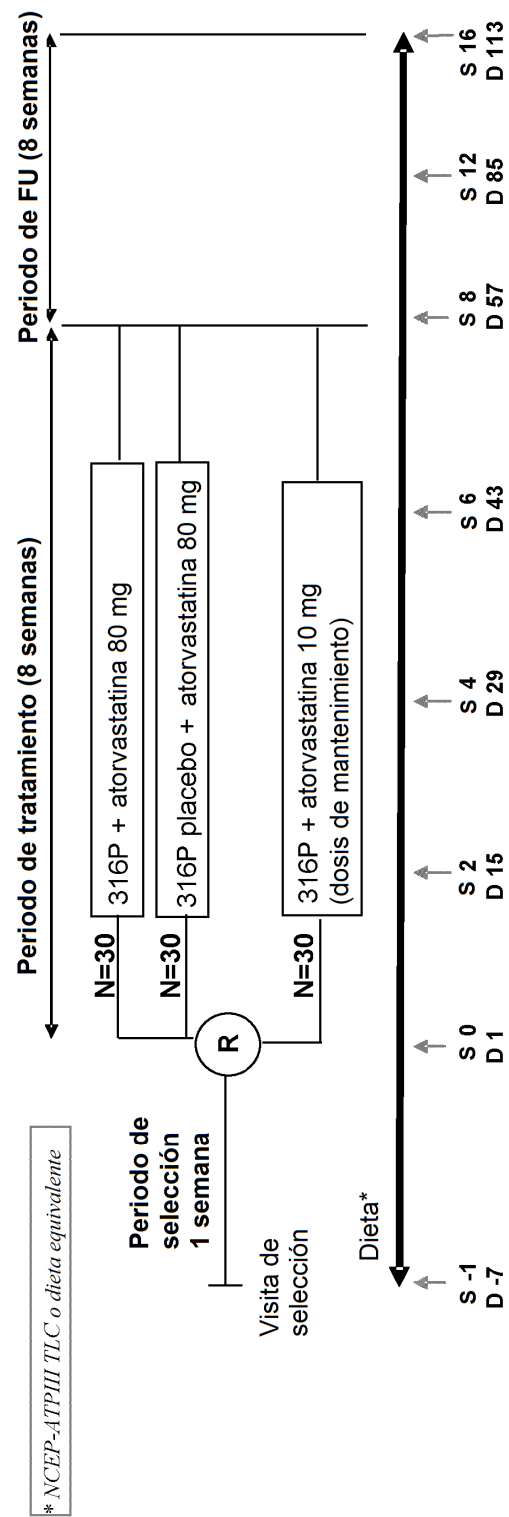


Fig.6

