

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201790211** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2017.05.31

(51) Int. Cl. **G01N 33/574 (2006.01)**

(22) Дата подачи заявки
2015.07.16

(54) СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ЛЕЧЕНИЯ АФЛИБЕРЦЕПТОМ ПАЦИЕНТА, ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО СТРАДАЮЩЕГО ОТ РАКА

(31) **14306172.9**

(32) **2014.07.18**

(33) **EP**

(86) **PCT/EP2015/066262**

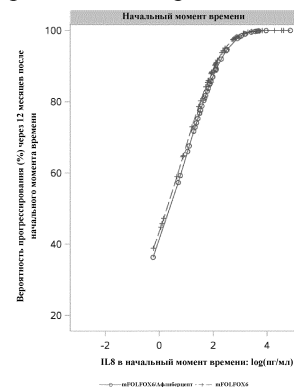
(87) **WO 2016/008975 2016.01.21**

(71) Заявитель:
САНОФИ (FR)

(72) Изобретатель:
**Широн-Блондель Мариэль (FR),
Ламбрехтс Дитер (BE), Магерини
Эмманюэль, Тьюе Венсен (FR)**

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

(57) Настоящее изобретение касается применения интерлейкина-8 (IL-8) в качестве биомаркера для прогнозирования результата лечения афлиберцептом или зив-афлиберцептом пациента, предположительно страдающего от рака.



201790211

A1

A1

201790211

**СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ЛЕЧЕНИЯ АФЛИБЕРЦЕПТОМ
ПАЦИЕНТА, ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО СТРАДАЮЩЕГО ОТ РАКА**

Настоящее изобретение касается применения интерлейкина 8 (IL8) в качестве биомаркера для прогнозирования результата лечения афлиберцептом или зив-афлиберцептом пациента, предположительно страдающего от рака.

Афлиберцепт или зив-афлиберцепт, также называемый VEGFR1R2-Fc.DELTA.C1 Flt1D2.Flk1D3.Fc.DELTA.C1 или AVE0005, представляет собой гомодимерный белок, в котором каждый димер содержит два идентичных мономера, каждый из которых является белком слияния, содержащим сигнальную последовательность VEGFR1, слитую с Ig-доменом D2 рецептора VEGFR1, который собственно слит с Ig-доменом D3 рецептора VEGFR2, в свою очередь слитого с Fc-доменом IgG1.

Белковая цепь является гликозилированной N-ацетил-глюкозамином, фукозой, галактозой, маннозой и сиаловыми кислотами, участвующими в образовании углеводных структур. N-связанные олигосахариды состоят главным образом из би-антеннарных структур с одной или двумя концевыми сиаловыми кислотами, или без них. Мономер характеризуется аминокислотной последовательностью под SEQ ID N°1.

Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) уже одобрило афлиберцепт под торговой маркой EYLEA® для лечения пациентов с неоваскулярной (влажной) возрастной макулодистрофией (AMD). В частности, EYLEA® является торговой маркой афлиберцепта, полученного, обработанного и составленного для интравитреального введения.

В ходе регистрации афлиберцепта (zaltraP) для применения в лечении рака и с учетом утвержденного применения афлиберцепта для лечения AMD, FDA потребовало присвоить другое название (зив-афлиберцепт) соединению, используемому в лечении рака. Таким образом, зив-афлиберцепт является наименованием лекарственного препарата (USAN), официально присвоенным FDA для обозначения фармацевтической композиции, содержащей афлиберцепт в виде

полученной, обработанной и составленной формы для введения путем внутривенной инфузии. Зив-афлиберцепт был утвержден FDA для продажи под торговой маркой ZALTRAP® для лечения метастатического колоректального рака (mCRC).

Европейское агентство по оценке и контролю лекарственных средств (EMA) также утвердило ZALTRAP®, однако не предложило разделить названия для данного соединения. Таким образом, в Европейском союзе название "афлиберцепт" используют независимо от показания.

ZALTRAP® и EYLEA® получали посредством несколько отличающихся способов. Они оба содержат афлиберцепт или зив-афлиберцепт, но соотношение агрегированных афлиберцепта и зив-афлиберцепта в ZALTRAP® и EYLEA® несколько отличается.

Утверждение ZALTRAP® основывалось на данных, полученных из исследования VELOUR - многоцентрового, рандомизированного, плацебо-контролируемого исследования III фазы, в котором сравнивали эффективность афлиберцепта в *сравнении* с плацебо в комбинации со схемой FOLFIRI для пациентов с mCRC, которых ранее лечили по схеме, содержащей оксалиплатин.

AFFIRM, открытое, не являющееся сравнительным исследованием II фазы проводили для оценки комбинации афлиберцепта и модифицированного FOLFOX6 (mFOLFOX6), которую использовали в качестве терапии первой линии пациентам с mCRC. Основным конечным показателем была 12-месячная выживаемость без прогрессирования заболевания (PFS), тогда как изучение биомаркеров было одной из дополнительных задач.

В попытке понять ключевые факторы, связанные с эффективностью и безопасностью афлиберцепта, проводили исследование с оценкой биомаркеров для лечения афлиберцептом с проспективным сбором данных, опухолевых тканей и последовательным отбором образцов плазмы крови у пациентов, которые принимали участие в исследовании AFFIRM.

Белки плазмы крови и аллели, которые представляют либо однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) в генах сигнального пути ангиогенеза, либо соматические мутации в ключевых онкогенах

mCRC, анализировали для оценки их способности прогнозировать ответ пациента на афлиберцепта в отношении показателя PFS. В дальнейшем также оценивали, коррелирует ли какой-либо из данных маркеров с антиангиогенными, индуцированными лекарственным средством АЕ (неблагоприятными эффектами), такими как перфорация желудочно-кишечного тракта, тромбоз, гипертензия и протеинурия.

Несмотря на эффективность и безопасность афлиберцепта в лечении рака, целью остается улучшение идентификации пациентов, которые должны получить большую пользу от лечения.

Было обнаружено, что высокие уровни IL8 в начальный момент времени коррелируют с более короткими показателями времени выживаемости, при этом пациенты с повышающимися уровнями IL8 в ходе лечения более подвержены прогрессированию заболевания. Это свидетельствует о том, что пациенты с высокими уровнями IL8 в начальный момент времени или в ходе лечения подвергаются повышенному риску прогрессирования заболевания в ходе терапии афлиберцептом.

Роль IL8 в развитии и росте опухоли рассмотрена в уровне техники.

Во II фазе исследования пациенты с гепатоцеллюлярной карциномой получали бевацизумаб (Boige V, Malka D, Bourredjem A et al. Efficacy, safety, and biomarkers of single-agent bevacizumab therapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Oncologist* 2012; 17: 1063-1072). Циркулирующие в крови эндотелиоциты (СЕС) и цитокины и ангиогенные факторы плазмы крови (CAF) измеряли в начальный момент времени и на протяжении лечения.

Данное исследование показало, что повышенные уровни IL-8 (выше 80 пг/мл) и IL-6 в начальный момент времени коррелировали как с более коротким периодом выживаемости без прогрессирования заболевания (PFS), так и с более коротким временем общей выживаемости (OS).

Однако авторы ссылаются на другое исследование с сорафенибом, где, в противоположность этому, IL-8 был единственным цитокином в плазме крови, не связанным с результатом в виде PFS.

Во II фазе другого исследования пациенты с метастатическим колоректальным раком (mCRC) получали бевацизумаб (Kopetz S, Hoff PM, Morris JS et al. Phase II trial of infusional fluorouracil, irinotecan, and bevacizumab for metastatic colorectal cancer: efficacy and circulating angiogenic biomarkers associated with therapeutic resistance. J Clin Oncol 2010; 28: 453-459).

Уровни САГ у 37 пациентов оценивали в начальный момент времени, в ходе лечения и во время прогрессирования заболевания (PD).

Авторы сделали заключение, что повышенный IL-8 в начальный момент времени, выше медианного значения в 3,7 пг/мл, ассоциировался с более короткими показателями времени PFS.

Данные результаты были получены с бевацизумабом, который представляет собой антитело. Афлиберцепт не является антителом, а белком слияния и, таким образом, характеризуется другим механизмом действия.

Невозможно прогнозировать влияние биомаркера на эффективность противоракового лечения при использовании указанного лекарственного средства, исходя из результатов, полученных с другим лекарственным средством.

Тем более, пороговая величина, выше или ниже которой пациент считается кандидатом для лечения, не может быть экстраполирована на два разные лекарственные средства.

Настоящее изобретение относится к применению интерлейкина-8 (IL-8) в качестве биомаркера для прогнозирования результата лечения афлиберцептом или зив-афлиберцептом пациента, предположительно страдающего от рака.

Согласно одному аспекту настоящее изобретение предусматривает способ определения того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом указанного рака, предусматривающий стадию проведения по меньшей мере одного анализа биологического образца пациента для измерения уровня IL-8 в начальный момент времени, где, если уровень IL-8 в биологическом образце является низким по отношению к эталонному

уровню экспрессии IL-8, то пациента определяют как кандидата для указанной противораковой терапии.

Согласно другому аспекту настоящее изобретение предусматривает способ определения того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом указанного рака, предусматривающий стадию проведения по меньшей мере одного анализа биологического образца пациента для измерения уровня IL-8 в начальный момент времени, где, если уровень IL-8 в биологическом образце является высоким по отношению к эталонному уровню экспрессии IL-8, то пациента определяют как не являющегося кандидатом для указанной противораковой терапии.

Согласно варианту осуществления эталонный уровень экспрессии IL-8 находится в диапазоне от приблизительно 10 до приблизительно 30 пг/мл.

Согласно дополнительному варианту осуществления эталонный уровень экспрессии IL-8 находится в диапазоне от приблизительно 15 до приблизительно 25 пг/мл или от приблизительно 17 до приблизительно 21 пг/мл.

Согласно дополнительному варианту осуществления эталонный уровень экспрессии IL-8 составляет приблизительно 18 пг/мл, приблизительно 19 пг/мл или приблизительно 20 пг/мл.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения пациента с раком с помощью афлиберцепта или зив-афлиберцепта, предусматривающему введение терапевтически эффективного количества афлиберцепта или зив-афлиберцепта пациенту, где уровень IL-8 в биологическом образце пациента является низким по отношению к эталонному уровню экспрессии IL-8.

Настоящее изобретение дополнительно относится к способу оптимизации терапевтической эффективности лечения рака, предусматривающему стадии:

а) введения афлиберцепта или зив-афлиберцепта пациенту, предположительно страдающему от рака; и

б) определения уровня интерлейкина-8 (IL-8) в биологическом образце пациента,

где повышение уровня интерлейкина-8 (IL-8) свидетельствует о необходимости снизить количество афлиберцепта или зив-афлиберцепта при последующих введениях.

Дополнительной целью настоящего изобретения является способ управления риском для обеспечения возможности безопасного применения афлиберцепта или зив-афлиберцепта в лечении пациента, предположительно страдающего от рака, при этом указанный способ включает следующие стадии:

а) определение уровня интерлейкина-8 (IL-8) в биологическом образце от пациента до начала лечения афлиберцептом или зив-афлиберцептом;

б) определение уровня интерлейкина-8 (IL-8) в биологическом образце от пациента в ходе лечения;

с) сравнение уровня интерлейкина-8 (IL-8), определенного на стадии (б), с уровнем, определенным на стадии (а),

при этом более высокий уровень интерлейкина-8 (IL-8) в образце из стадии (б) по сравнению с уровнем в образце из стадии (а) свидетельствует о необходимости проведения тщательного мониторинга пациента.

Согласно варианту осуществления одного из способов, описанных выше, биологический образец выбран из группы, состоящей из крови, сыворотки и плазмы крови.

Согласно варианту осуществления одного из способов, описанных выше, рак представляет собой рак толстого кишечника, колоректальный рак или рак прямой кишки.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов колоректальный рак представляет собой метастатический колоректальный рак.

Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения субъекта подвергают лечению афлиберцептом и его дополнительно подвергают химиотерапевтическому лечению оксалиплатином, 5-фторурацилом (5-FU) и фолиниевой кислотой (т.е. лечению FOLFOX), фолиниевой кислотой, 5-фторурацилом и ириноцетаном (т.е. лечению FOLFIRI), или 5-фторурацилом и фолиниевой кислотой (т.е. лечению FUFOL или LV5FU2).

Химиотерапевтическое лечение может представлять собой комбинацию из по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или не более 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 средств, таких как, например, комбинация оксалиплатина, 5-фторурацила (5-FU) и фолиниевой кислоты (т.е. лечение FOLFOX или модифицированное лечение FOLFOX6, как описано в примере ниже), комбинация фолиниевой кислоты, 5-фторурацила и ириноцетана (т.е. лечение FOLFIRI), или комбинация 5-фторурацила и фолиниевой кислоты (т.е. лечение FUFOL или LV5FU2).

В связи с этим заявка WO 2012146610 относится к способу лечения mCRC с использованием афлиберцепта или зив-афлиберцепта в комбинации с FOLFIRI. Содержание данной заявки включено посредством ссылки.

Согласно варианту осуществления одного из способов, описанных выше, терапевтически эффективные количества афлиберцепта или зив-афлиберцепта, оксалиплатина, 5-фторурацила (5-FU) и фолиниевой кислоты вводят указанному пациенту.

Согласно варианту осуществления одного из способов, описанных выше, терапевтически эффективные количества афлиберцепта или зив-афлиберцепта, фолиниевой кислоты, 5-фторурацила (5-FU) и ириноцетана вводят указанному пациенту.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов, описанных выше, пациенту вводят фолиниевую кислоту в дозе, находящейся в диапазоне от приблизительно 200 мг/м² до приблизительно 600 мг/м², 5-фторурацил (5-FU) в дозе, находящейся в диапазоне от приблизительно 2000 мг/м² до приблизительно 4000 мг/м², ириноцетан в дозе, находящейся в диапазоне от приблизительно 100 мг/м² до приблизительно 300 мг/м², и афлиберцепт в дозе, находящейся в диапазоне от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов, описанных выше, пациенту вводят фолиниевую кислоту в дозе, составляющей приблизительно 400 мг/м², 5-фторурацил (5-FU) в дозе, составляющей приблизительно 2800 мг/м², ириноцетан в дозе, составляющей приблизительно 180 мг/м², и афлиберцепт в дозе, составляющей приблизительно 4 мг/кг.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов, описанных выше, фолиниевую кислоту вводят внутривенно в дозе, составляющей приблизительно 400 мг/м^2 , 5-фторурацил (5-FU) вводят внутривенно в дозе, составляющей приблизительно 2800 мг/м^2 , ириноцетан вводят внутривенно в дозе, составляющей приблизительно 180 мг/м^2 , и афлиберцепт вводят внутривенно в дозе, составляющей приблизительно 4 мг/кг , и при этом комбинацию вводят каждые две недели.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов, описанных выше, фолиниевую кислоту, 5-фторурацил (5-FU), ириноцетан и афлиберцепт вводят внутривенно каждые две недели в течение периода, находящегося в диапазоне от 9 до 18 недель.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов, описанных выше, фолиниевую кислоту вводят внутривенно непосредственно после введения афлиберцепта. Ее также можно вводить внутривенно непосредственно после введения афлиберцепта в течение периода, составляющего приблизительно 2 часа.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов, описанных выше, ириноцетан вводят внутривенно непосредственно после введения афлиберцепта. Его также можно вводить внутривенно непосредственно после введения афлиберцепта в течение периода, составляющего приблизительно 90 минут.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов, описанных выше, 5-фторурацил (5-FU) вводят непосредственно после введения афлиберцепта.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов, описанных выше, первое количество 5-фторурацила (5-FU) вводят внутривенно непосредственно после введения афлиберцепта, а второе количество 5-FU вводят внутривенно после первого количества посредством непрерывной инфузии.

Согласно дополнительному варианту осуществления одного из способов, описанных выше, приблизительно 400 мг/м^2 5-фторурацила (5-FU) вводят внутривенно за период, составляющий от 2 до 4 минут, после введения афлиберцепта, и при этом 2400 мг/м^2 5-FU

вводят внутривенно в течение более приблизительно 46 часов после введения 400 мг/м² посредством непрерывной инфузии.

Согласно варианту осуществления указанного пациента предварительно подвергали лечению с помощью терапии на основе оксалиплатина или бевацизумаба.

Согласно другому варианту осуществления химиотерапия, лучевая терапия или хирургическое вмешательство у указанного пациента были неудачными.

Настоящее изобретение также относится также к афлиберцепту или зив-афлиберцепту для лечения пациента, предположительно страдающего от рака, где уровень IL-8 в биологическом образце пациента является ниже диапазона, составляющего от приблизительно 15 до приблизительно 50 пг/мл.

Настоящее изобретение дополнительно относится к набору для прогнозирования того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом, при этом набор содержит

- a) средства для измерения уровня интерлейкина-8 (IL-8) и
- b) необязательно инструкцию, предоставляющую указания по применению указанного набора в прогнозировании того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом;

Согласно другому аспекту настоящее изобретение дополнительно относится к изделию, содержащему

- a) упаковочный материал;
- b) средства для измерения уровня интерлейкина-8 (IL-8) и
- c) инструкцию, предоставляющую указания по применению указанного набора в прогнозировании того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом.

Вышеуказанные способы по настоящему изобретению и его применение могут представлять собой, например, *in vitro* или *ex vivo* способы и применение.

Средства для измерения уровня экспрессии белка IL8 хорошо известны из уровня техники и включают иммунологический анализ, такой как анализ ELISA. Средства для измерения белка IL8

включают антитела, специфически связывающиеся с IL8. Можно осуществлять мечение таких средств с использованием выявляемого соединения, такого как флуорофоры или радиоактивные соединения. Например, можно осуществлять мечение зонда или антитела, специфически связывающихся с IL8, с использованием выявляемого соединения. Альтернативно, если набор содержит антитело, то данный набор может дополнительно содержать вторичное антитело, меченное выявляемым соединением, которое связывается с немеченным антителом, специфически связывающимся с IL8.

Средства для измерения уровня экспрессии IL8 могут также включать такие реагенты, как, например, реакционные и/или отмывочные буферы. Средства могут находиться, например, во флаконах или титрационных микропланшетах, или могут быть закрепленными на твердой подложке, такой как микрочип, что может быть в случае для праймеров и зондов.

Афлиберцепт или зив-афлиберцепт предложен в составе, который не причиняет вреда пациенту, подлежащему лечению.

Согласно варианту осуществления афлиберцепт или зив-афлиберцепт *предложен в составе* с сахарозой и полисорбатом 20 (стабилизаторами), хлоридом натрия, цитратным буфером и натрий-фосфатным буфером, с доведенным до определенного значения pH.

Согласно другому варианту осуществления афлиберцепт или зив-афлиберцепт поставляют в двух формах выпуска лекарственного средства:

- форма выпуска со 100 мг афлиберцепта или зив-афлиберцепта/4,0 мл (номинальная концентрация);
- вторая форма выпуска с 200 мг афлиберцепта или зив-афлиберцепта/8,0 мл (номинальная концентрация).

Обе формы выпуска изготавливают из одного основного стерильного раствора с концентрацией афлиберцепта или зив-афлиберцепта, составляющей 25 мг/мл.

Перед инфузией пациенту концентрированный раствор разбавляют 0,9% раствором хлорида натрия или 5% декстрозой.

Противораковые средства, которые используют в упомянутом выше способе или в применении, предлагают в фармацевтически

приемлемом носителе, наполнителе или разбавителе, который не причиняет вреда пациенту, подлежащему лечению.

Фармацевтически приемлемые носители и наполнитель, которые можно использовать в композициях по настоящему изобретению включают без ограничения ионообменные вещества, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, самоэмульгирующиеся системы для доставки лекарственных средств (SEDDS), как, например, d-α-токоферол полиэтиленгликоль 1000 сукцинат, поверхностно-активные вещества, используемые в фармацевтических лекарственных формах, такие как разновидности Tween, или другие подобные полимерные матрицы для доставки, сывороточные белки, такие как сывороточный альбумин человека, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, неполные глицеридные смеси насыщенных растительных жирных кислот, воду, соли или электролиты, такие как протамин сульфат, гидрофосфат натрия, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, натрий-карбоксиметилцеллюлозу, полиакрилаты, воска, блок-сополимеры полиэтилена и полиоксипропилена, полиэтиленгликоль и ланолин.

Специалистам будет понятно, что композиции предпочтительно составляют так, чтобы они были совместимы с предполагаемым путем введения. Примеры подходящих путей введения включают парентеральный путь, включая, например, внутримышечные, подкожные, внутривенные, внутрибрюшинные или местные внутриопухолевые инъекции. Пероральный путь также можно использовать, при условии, что композиция находится в подходящей для перорального введения форме, способной защитить активный вещество от ферментов желудка и кишечника.

Термины "терапия", "терапевтический", "лечение" и "проведение лечения" используют в данном документе для характеристики терапевтического способа или способа, который направлен на (1) замедление или остановку прогрессирования, обострения или ухудшения симптомов течения заболевания или болезненного состояния, по отношению к которым используют данный термин; (2)

облегчение или осуществление уменьшения интенсивности симптомов течения заболевания или болезненного состояния, по отношению к которым данный термин используют; и/или (3) регрессию или излечение течения заболевания или болезненного состояния, по отношению к которым данный термин используют.

В данном документе термины "интерлейкин-8" и "IL-8" используют взаимозаменяемо и они относятся ко всем встречающимся в природе изоформам, включая альтернативные сплайс-варианты, аллельные варианты, и включают встречающиеся в природе варианты, SNP (однонуклеотидные полиморфизмы) и усеченные или секретированные формы белка IL-8.

В частности, термин "интерлейкин 8" относится к полипептиду, содержащему аминокислотную последовательность или состоящему из нее, которая соответствует последовательности в базе UniProtKB/Swiss-Prot с номером доступа P10145 (SEQ ID NO: 2), и/или

a) полипептиду, соответствующему зрелой изоформе полипептида (a) (т.е. полученной после расщепления сигнального пептида); и/или

b) аллельному варианту полипептида (a) или (b); и/или

c) сплайс-варианту полипептида (a), (b) или (c); и/или

d) постоянно активному мутанту полипептида (a), (b), (c) или (d);

e) изоформе, полученной посредством протеолитического процессинга полипептида (a), (b), (c), (d) или (e).

Под выражением "изоформа полипептида" понимают полипептид, который характеризуется по меньшей мере приблизительно 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью аминокислотной последовательности к эталонной последовательности полноразмерного полипептида, и характеризуется аналогичной биологической активностью. В контексте настоящей заявки процент идентичности рассчитывали с использованием глобального выравнивания последовательностей (т.е. две последовательности

сравнивали по всей их длине). Способы сравнения идентичности двух или более последовательностей хорошо известны из уровня техники. Например, можно использовать программу «needle», использующую алгоритм глобального выравнивания последовательностей Нидлмана-Вунша (Needleman and Wunsch, 1970 J. Mol. Biol. 48:443-453) для нахождения оптимального выравнивания (с учетом гэпов) двух последовательностей по всей длине. Программа Needle является, например, доступной в сети Интернет на сайте ebi.ac.uk. Процент идентичности в соответствии с настоящим изобретением может быть рассчитан с использованием программы EMBOS::needle (глобальной) с параметром "открытие гэпа", равным 10,0, параметром "продолжение гэпа", равным 0,5, и с матрицей Blosum62.

"Изоформа" также относится ко всем посттрансляционно модифицированным формам белка IL8. Посттрансляционно модифицированные изоформы могут включать ацетилированные, формирированные, липоилированные, миристоилированные, пальмитоилированные, алкилированные, метилированные, амидированные, гликозилированные, гидроксильные, нитрозилированные, фосфорилированные, сульфатированные, полисиалированные и сиалированные формы.

"Эталонный уровень экспрессии IL-8" может быть определен как отдельное значение или диапазон значений, который определяют на основе уровня экспрессии IL-8, измеренного, например, в популяции здоровых субъектов или в популяции субъектов, нуждающихся в терапии афлиберцептом.

Согласно варианту осуществления эталонный уровень экспрессии IL-8 определяют на основе уровня экспрессии IL-8, измеренного в популяции субъектов, нуждающихся в терапии афлиберцептом.

Как правило, анализируемую популяцию можно разделить в процентилях на основе измеренного уровня экспрессии IL-8. Эталонный уровень можно определить как процентиль, который обеспечивает наилучшее разделение пациентов, страдающих от рака, для которых лечение афлиберцептом являлось эффективным, и

пациентов, страдающих от рака, для которых лечение афлиберцептом являлось недостаточно эффективным для излечения.

В исследовании, описанном в примере 1 ниже, эталонный уровень экспрессии IL-8 составлял 19 пг/мл (77-й процентиль).

Однако эталонный уровень экспрессии IL-8 может варьировать i) в зависимости от размера исследуемой популяции и ii) в зависимости от способа, используемого для измерения экспрессии IL-8.

Уровень белка интерлейкина 8 можно определить, например, с использованием способов иммунологического выявления, таких как анализ ELISA. Способы включают антитело, которое связывается с белком интерлейкин 8, например, моноклональное или поликлональное антитело, вариант или фрагменты антитела, такие как одноцепочечное антитело, диатело, минитело, одноцепочечный Fv-фрагмент ($sc(Fv)$), $sc(Fv)_2$ антитело, Fab-фрагмент или $F(ab')_2$ -фрагмент, или однодоменное антитело. Такие антитела хорошо известны из уровня техники и являются коммерчески доступными. В частности, их также можно получить посредством иммунизации животных (например, кроликов, крыс или мышей) белком интерлейкин 8. Антитела можно использовать для определения экспрессии белка в ряде иммунологических анализов, включающих системы конкурентного и неконкурентного анализа, использующие такие методики, как вестерн-блоттинг, иммуногистохимический анализ/иммунофлуоресценция (т.е. определение белка в фиксированных клетках или тканях), радиоиммунологический анализ, такой как RIA (изотопный иммунологический анализ), ELISA (твердофазный иммуноферментный анализ), иммунологические анализы по типу "сэндвич", реакция иммунопреципитации, реакция иммунодиффузии, реакция агглютинации, реакция связывания комплемента, иммунорадиометрические анализы, иммунофлуоресцентные анализы, например, FIA (иммунологический флуоресцентный анализ), хемилюминесцентные иммунологические анализы, ECLIA (электрохемилюминесцентный иммунологический анализ) и иммунологические анализы с использованием белка А. Данные анализы являются стандартными и хорошо известны специалисту в данной области (Ausubel et al (1994) *Current*

Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York).

Экспрессию белка интерлейкин 8 можно также определить посредством протеомного способа, такого как масс-спектрометрические анализы (LC-MS или LC-MS/MS). Качественные и количественные масс-спектрометрические методики известны и используются в уровне техники. Для этого целевые пептиды, специфические к маркерным белкам, выбирают и количественно определяют на основе калибровочных кривых, построенных по данным анализа синтетических пептидов, меченых стабильными изотопами. Продукты ферментативного расщепления, в которые добавляли определенное количество меченых изотопами целевых пептидов, анализировали посредством жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией. Соотношение меченых и немеченых целевых пептидов измеряли для оценки концентраций целевых пептидов и, следовательно, концентрации маркерного белка.

Выражение "циркулирующий IL8" предназначено для обозначения белков IL8, присутствующих в крови, сыворотке и плазме крови.

"Субъект" или "пациент" может быть человеком или отличным от человека млекопитающим, таким как обезьяны, собаки, кошки, морские свинки, хомяки, кролики, коровы, лошади, козы и овца.

Фигуры 1 и 2 иллюстрируют взаимосвязь между уровнями IL8 и вероятностью прогрессирования заболевания. Приведенное на фигурах представляет собой вероятность прогрессирования заболевания после 12 месяцев по отношению к уровням IL-8 в плазме крови в начальный момент времени (фигура 1) и различие между уровнями IL-8 в плазме крови в начальный момент времени и последней контрольной точкой до начала прогрессирования заболевания (фигура 2). Вкратце, на фигуре 1 показано, что высокие уровни IL8 коррелируют с повышенной вероятностью прогрессирования заболевания и что данный эффект несколько больше выражен у пациентов, которых лечили афлиберцептом в сравнении с лечением FOLFOX. С другой стороны, на фигуре 2 показано, что повышение IL8 по отношению к начальному моменту времени также соответствует прогрессированию заболевания.

Поскольку показатели повышения IL8 нанесены по логарифмической шкале, значения в диапазоне от -3 до 0 соответствуют повышению IL8, составляющему <1 пг/мл, где значения в диапазоне от 0 до 3 представляют показатели повышения, составляющие >1 пг/мл. Таким образом, данные показывают, что даже небольшое повышение IL8 по отношению к начальному моменту времени уже соответствует повышенной вероятности прогрессирования заболевания в группе с афлиберцептом.

ПРИМЕР. Влияние интерлейкина 8 на PFS в исследовании AFFIRM
ИССЛЕДОВАНИЕ ECF10668 (AFFIRM)

ECF10668 планировали как рандомизированное, международное исследование, в котором сравнивали возникновение неблагоприятных эффектов у пациента с метастатическим колоректальным раком (MCRC), которого подвергали лечению с помощью

i) модифицированной FOLFOX6 (комбинации оксалиплатина, 5-фторурацила (5-FU) и фолиниевой кислоты), которую вводили внутривенно каждые 2 недели в качестве лечения первой линии (группа A); или

ii) афлиберцепта в дозе, составляющей 4 мг/кг, в сочетании с модифицированной FOLFOX6, которую вводили внутривенно каждые 2 недели в качестве лечения первой линии.

Схема введения

Пациентам вводили внутривенно либо афлиберцепт, после которого непосредственно вводили оксалиплатин, 5-фторурацил (5-FU) и фолиниевую кислоту (модифицированная схема FOLFOX6), либо модифицированную FOLFOX6 отдельно, в зависимости от группы, в которую их определяли.

Данное лечение повторяли каждые 2 недели до наступления прогрессирования (или неприемлемой токсичности, или отзыв согласия пациента).

Доза

Пациенты, которых рандомизировали в группу с афлиберцептом, получали 4 мг/кг IV каждые 2 недели.

Следующие лекарственные средства вводили пациентам в обеих группах лечения:

оксалиплатин (Eloxatin®),
фолиниевая кислота (также известная как лейковорин),
5-фторурацил.

Составы оксалиплатина, 5-фторурацила и фолиниевой кислоты:
используемые продукты были в наличии в аптеке
больницы/клиники.

Путь введения: IV.

Доза: оксалиплатин, фолиниевую кислоту и 5-фторурацил
вводили согласно схеме mFOLFOX6 в следующих дозах:

85 мг/м² оксалиплатина в виде 2-часовой IV инфузии в день 1,
350 мг/м² фолиниевой кислоты в виде 2-часовой IV инфузии в
день 1,

400 мг/м² 5-фторурацила в виде болюсного IV введения в день
1, а затем 2400 мг/м² в виде 46-часовой непрерывной IV инфузии,
начиная в день 1.

В случае, если площадь поверхности тела >2,0 м², то
фактические дозы оксалиплатина и 5-FU приводили к максимальной
BSA, составляющую 2,0 м², по соображениям безопасности. В случае
тяжелой интоксикации планировали уменьшение дозы, и/или отсрочку
введения препарата, и/или прекращение лечения. Модифицированную
схему FOLFOX6 использовали после введения афлиберцепта.

Продолжительность лечения

Лечение конкретного пациента осуществляли до наступления
прогрессирования или до тех пор, пока не наступит неприемлемая
токсичность или пациент отзовет свое согласие.

Продолжительность лечения составляла примерно 12 месяцев.

Демографические данные и характеристики исходного уровня

В таблице 1 ниже сравнивают демографические данные и
характеристики пациентов в начальный момент времени между
популяциями, которые оценивают в отношении биомаркеров, и
которые не оценивают в отношении биомаркеров.

"Популяция, которую оценивают в отношении биомаркеров"
определена как популяция пациентов, которые предоставляли
образец крови/опухоли для оценки биомаркера; в то время как
"популяция, которую не оценивают в отношении биомаркеров"

относится к пациентам, которые не предоставляли образец крови/опухоли для оценки биомаркеров (например, пациенты, которые не давали согласие на исследование в отношении биомаркеров).

Все характеристики являются подобными между популяциями, за исключением региона происхождения пациентов: Восточная Европа обычно более широко представлена, а другие страны обычно представлены в меньшей степени в популяции, которую оценивают в отношении биомаркеров, по сравнению с популяцией, которую не оценивают в отношении биомаркеров.

Таблица 1. Обобщенные результаты демографических данных пациентов и характеристик пациентов в начальный момент времени – популяция, которую оценивают в отношении биомаркеров

	Популяция, которую не оценивают в отношении биомаркеров		Популяция, которую оценивают в отношении биомаркеров		р-значение
	mFolfox6 (N=57)	Афлибер-цепт/mFolfox6 (N=49)	mFolfox6 (N=60)	Афлибер-цепт/mFolfox6 (N=70)	
Пол [n (%)]					1,0000 ^a
Число	57	49	60	70	
Мужской	32 (56,1%)	33 (67,3%)	36 (60,0%)	43 (61,4%)	
Женский	25 (43,9%)	16 (32,7%)	24 (40,0%)	27 (38,6%)	
Возраст (лет)					0,2811 ^b
Число	57	49	60	70	
Медиана	66,0	62,0	62,0	62,5	
Среднее значение (SD)	63,7 (10,0)	61,8 (9,5)	61,3 (9,4)	61,7 (8,7)	
Минимум: Максимум	44: 87	29: 75	37: 81	41: 79	
Возрастная группа [n (%)]					0,2421 ^a
Число	57	49	60	70	
<65	27 (47,4%)	28 (57,1%)	38 (63,3%)	42 (60,0%)	
≥65 но <75	23 (40,4%)	20 (40,8%)	20 (33,3%)	25 (35,7%)	
≥75	7 (12,3%)	1 (2,0%)	2 (3,3%)	3 (4,3%)	

	Популяция, которую не оценивают в отношении биомаркеров		Популяция, которую оценивают в отношении биомаркеров		р-значение
	mFolfox6 (N=57)	Афлибер-цепт/mFolfox6 (N=49)	mFolfox6 (N=60)	Афлибер-цепт/mFolfox6 (N=70)	
Раса [n (%)]					0,0640 ^a
Число	57	49	60	70	
Европеоиды/белые	41 (71,9%)	37 (75,5%)	49 (81,7%)	60 (85,7%)	
Черные	0	0	0	1 (1,4%)	
Азиаты/представители восточной расы	16 (28,1%)	11 (22,4%)	11 (18,3%)	9 (12,9%)	
Другие	0	1 (2,0%)	0	0	
Регион					0,0029 ^a
Число	57	49	60	70	
Западная Европа	37 (64,9%)	30 (61,2%)	37 (61,7%)	45 (64,3%)	
Восточная Европа	3 (5,3%)	3 (6,1%)	12 (20,0%)	12 (17,1%)	
Другие страны	17 (29,8%)	16 (32,7%)	11 (18,3%)	13 (18,6%)	
BSA (м2)					0,1091 ^b
Число	57	49	60	70	
Медиана	1,8	1,8	1,8	1,8	
Среднее значение (SD)	1,7 (0,2)	1,8 (0,2)	1,8 (0,2)	1,8 (0,2)	
Минимум: Максимум	1: 2	1: 2	1: 2	1: 2	
Вес (кг)					0,0838 ^b
Число	57	49	60	70	
Медиана	67,6	70,0	73,2	71,4	
Среднее значение (SD)	67,3 (14,1)	71,1 (16,6)	74,0 (17,0)	71,5 (15,6)	
Минимум: Максимум	40: 107	40: 115	48: 134	40: 117	

^aсравнение показателей плотности распределения на основе точного критерия Фишера - 2-стороннего. ^bС использованием дисперсионного анализа (типа 3) с факторами: ВІОРОР, ВІОРОР. Данные с пропущенными значениями для факторов или ответа исключили из статистических анализов.

Плотность распределения ковариат сравнивали между популяциями, которые оценивают и которые не оценивают в отношении биомаркеров.

Примечание: Западная Европа=Германия, Италия, Испания, Соединенное Королевство; Восточная Европа=Российская Федерация; Другие страны=Австралия, Корея.

Характеристики заболевания в начальный момент времени

Характеристики заболевания в начальный момент времени были аналогичными у двух популяций (см. таблицы 2 и 3 ниже).

Таблица 2. Обобщенные результаты характеристик заболеваний при постановке первичного диагноза

	Популяция, которую не оценивают в отношении биомаркеров		Популяция, которую оценивают в отношении биомаркеров		р-значение
	mFolfox6 (N=57)	Афлибер-цепт/mFolfox6 (N=49)	mFolfox6 (N=60)	Афлибер-цепт/mFolfox6 (N=70)	
Первичная локализация [n (%)]					0,7045 ^a
Число	57	49	60	70	
Толстая кишка	27 (47,4%)	26 (53,1%)	31 (51,7%)	33 (47,1%)	
Ректосигмовидный отдел ободочной кишки	9 (15,8%)	15 (30,6%)	16 (26,7%)	19 (27,1%)	
Прямая кишка	21 (36,8%)	8 (16,3%)	13 (21,7%)	18 (25,7%)	
Гистологический тип [n (%)]					
Число	57	49	60	70	
Аденокарцинома	57 (100%)	49 (100%)	60 (100%)	70 (100%)	
Определение стадии при постановке диагноза [n (%)]					0,2297 ^a
Число	56	48	57	68	
Стадия I	1 (1,8%)	0	2 (3,5%)	2 (2,9%)	
Стадия II	2 (3,6%)	1 (2,1%)	6 (10,5%)	4 (5,9%)	
Стадия III	5 (8,9%)	3 (6,3%)	3 (5,3%)	4 (5,9%)	
Стадия IV	48 (85,7%)	44 (91,7%)	46 (80,7%)	58 (85,3%)	

	Популяция, которую не оценивают в отношении биомаркеров		Популяция, которую оценивают в отношении биомаркеров		р-значение
	mFolfox6 (N=57)	Афлибер-цепт/mFolfox6 (N=49)	mFolfox6 (N=60)	Афлибер-цепт/mFolfox6 (N=70)	
Время от постановки диагноза до рандомизации (месяцы) *					0,6620 ^b
Число	57	49	60	69	
Медиана	1,4	1,8	1,6	1,7	
Среднее значение (SD)	12,6 (30,9)	9,2 (16,9)	9,8 (19,8)	9,7 (17,5)	
Минимум: Максимум	0: 149	0: 80	0: 84	0: 80	

^aсравнение показателей плотности распределения на основе точного критерия Фишера - 2-стороннего. ^bС использованием дисперсионного анализа (типа 3) с факторами: ВІОРОР, ВІОРОР. Данные с пропущенными значениями для факторов или ответа исключили из статистических анализов.

Плотность распределения ковариат сравнивали между популяциями, которые оценивают и которые не оценивают в отношении биомаркеров.

*Если день исходной даты постановки диагноза пропущен, то его рассматривают как первый день месяца

Таблица 3. Обобщенные результаты органов, пораженных в начальный момент времени

	Популяция, которую не оценивают в отношении биомаркеров		Популяция, которую оценивают в отношении биомаркеров		р-значение
	mFolfox6 (N=57)	Афлибер-цепт/mFolfox6 (N=49)	mFolfox6 (N=60)	Афлибер-цепт/mFolfox6 (N=70)	

	Популяция, которую не оценивают в отношении биомаркеров		Популяция, которую оценивают в отношении биомаркеров		р-значение
	mFolfox6 (N=57)	Афлибер-цепт/мFolfox6 (N=49)	mFolfox6 (N=60)	Афлибер-цепт/мFolfox6 (N=70)	
Число пораженных метастазами органов в начальный момент времени (за исключением первичной локализации) [n (%)]					0,1711 ^a
Число	57	49	60	70	
0	0	0	1 (1,7%)	0	
1	16 (28,1%)	15 (30,6%)	15 (25,0%)	12 (17,1%)	
>1	41 (71,9%)	34 (69,4%)	44 (73,3%)	58 (82,9%)	
Пораженные метастазами органы в начальный момент времени (за исключением первичной локализации) [n (%)]	57 (100%)	49 (100%)	59 (98,3%)	70 (100%)	
Печень	44 (77,2%)	42 (85,7%)	47 (78,3%)	57 (81,4%)	
Легкие	27 (47,4%)	18 (36,7%)	25 (41,7%)	28 (40,0%)	
Лимфатические узлы	26 (45,6%)	25 (51,0%)	30 (50,0%)	38 (54,3%)	
Мышцы/мягкие ткани	9 (15,8%)	6 (12,2%)	14 (23,3%)	10 (14,3%)	
Брюшина	8 (14,0%)	7 (14,3%)	8 (13,3%)	16 (22,9%)	
Плевра	5 (8,8%)	7 (14,3%)	2 (3,3%)	1 (1,4%)	
Надпочечники	2 (3,5%)	0	1 (1,7%)	1 (1,4%)	
Кости	2 (3,5%)	1 (2,0%)	4 (6,7%)	4 (5,7%)	
Почки	1 (1,8%)	0	0	0	
Селезенка	1 (1,8%)	1 (2,0%)	1 (1,7%)	1 (1,4%)	
Мочевой пузырь	0	0	1 (1,7%)	1 (1,4%)	

	Популяция, которую не оценивают в отношении биомаркеров		Популяция, которую оценивают в отношении биомаркеров		р-значение
	mFolfox6 (N=57)	Афлибер-цепт/мFolfox6 (N=49)	mFolfox6 (N=60)	Афлибер-цепт/мFolfox6 (N=70)	
Пораженные метастазами органы в классе начального момента времени (за исключением первичной локализации) [n (%)]					0,3536 ^a
Число	57	49	60	70	
Метастазы в печени отсутствуют, или наличие метастазов в печени и других органах	49 (86,0%)	39 (79,6%)	51 (85,0%)	63 (90,0%)	
Метастазы только в печени	8 (14,0%)	10 (20,4%)	9 (15,0%)	7 (10,0%)	

^aсравнение показателей плотности распределения на основе точного критерия Фишера - 2-стороннего. Данные с пропущенными значениями для факторов или ответа исключили из статистических анализов.

Плотность распределения ковариат сравнивали между популяциями, которые оценивают и которые не оценивают в отношении биомаркеров.

*Проценты не суммируются (сумма больше чем 100%)

Оценка безопасности

А. Продолжительность воздействия

В таблице 4 ниже показано, что пациентов в популяции, которую оценивают в отношении биомаркеров, подвергали лечению несколько дольше, чем пациентов в популяции, которую не оценивают в отношении биомаркеров (среднее число циклов: 12 по сравнению с 9 или 10).

Отсутствовали различия в воздействии между группами, получающими лечение, в популяции, которую оценивают в отношении биомаркеров.

Таблица 4. Обобщенные результаты общего воздействия исследуемого лечения

	Популяция, которую не оценивают в отношении биомаркеров		Популяция, которую оценивают в отношении биомаркеров	
	mFolfox6 (N=56)	Афлибер-цент/мFolfox6 (N=49)	mFolfox6 (N=60)	Афлибер-цент/мFolfox6 (N=70)
Число циклов, которое получал пациент				
Сумма	614	572	770,0	865,0
Среднее значение (SD)	11,0 (7,0)	11,7 (9,5)	12,8 (7,0)	12,4 (7,9)
Медиана	10,0	9,0	12,0	12,0
Минимум: Максимум	1: 43	1: 44	3: 33	1: 42
Число циклов, которое получал пациент				
1	2 (3,6%)	3 (6,1%)	0	2 (2,9%)
2	2 (3,6%)	2 (4,1%)	0	2 (2,9%)
3	3 (5,4%)	1 (2,0%)	2 (3,3%)	2 (2,9%)
4	3 (5,4%)	4 (8,2%)	5 (8,3%)	8 (11,4%)
5	1 (1,8%)	0	1 (1,7%)	2 (2,9%)
6	1 (1,8%)	6 (12,2%)	0	4 (5,7%)
7	1 (1,8%)	5 (10,2%)	1 (1,7%)	3 (4,3%)
8	6 (10,7%)	1 (2,0%)	11 (18,3%)	2 (2,9%)
9	6 (10,7%)	3 (6,1%)	0	5 (7,1%)
10	5 (8,9%)	2 (4,1%)	4 (6,7%)	3 (4,3%)
11-15	16 (28,6%)	11 (22,4%)	21 (35,0%)	13 (18,6%)
16-20	7 (12,5%)	4 (8,2%)	6 (10,0%)	14 (20,0%)
21-25	1 (1,8%)	3 (6,1%)	5 (8,3%)	6 (8,6%)
>25	2 (3,6%)	4 (8,2%)	4 (6,7%)	4 (5,7%)

	Популяция, которую не оценивают в отношении биомаркеров		Популяция, которую оценивают в отношении биомаркеров	
	mFolfox6 (N=56)	Афлибер- цепт/мFol fox6 (N=49)	mFolfox6 (N=60)	Афлибер- цепт/мFol fox6 (N=70)
Продолжительнос ть воздействия (недель)				
Число	56	49	60	70
Среднее значение (SD)	25,2 (16,0)	27,5 (22,4)	29,5 (16,4)	28,7 (18,7)
Медиана	24,1	23,1	27,3	25,4
Минимум: Максимум	2: 95	2: 106	6: 77	2: 88

Продолжительность воздействия = ((первая дата последнего цикла + 14) - первая дата первого цикла) / 7.

SD: стандартное отклонение.

В. Анализ показателей плазмы крови

Концентрацию 27 цитокинов, факторов роста или растворимых рецепторов в плазме крови определяли с помощью конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием двух наборов Fluorokine® MAP (панели А ангиогенеза человека и высокочувствительной панели цитокинов человека; R&D Systems). Конкурентные эксперименты проводили для исследования взаимосвязи афлиберцепта с выявлением VEGF-A, VEGF-D и плацентарного фактора роста (PlGF). Ангиопоэтин-2 (ANGPT2), SDF1- α , HGF, VEGF-C, растворимый VEGF рецептор 3 (sFLT4, sVEGFR3) и sVEGFR2 оценивали с помощью отдельного ELISA (R&D Systems). Маркеры в плазме крови анализировали в начальный момент времени, в дни 30 и 60 после первой инфузии исследуемого препарата и через 30 дней после последней инфузии афлиберцепта.

Статистический анализ

Различия между пациентами, которых оценивают в отношении биомаркеров, и пациентами, которых не оценивают в отношении биомаркеров, определяли с использованием двухстороннего точного критерия Фишера для дискретных переменных и дисперсионного анализа для непрерывных переменных. Биомаркеры анализировали в виде количественных переменных посредством кодирования

отсутствия или присутствия соматической мутации в виде 0 или 1 и SNP генотипов в виде 0, 1 или 2, в зависимости от числа присутствующих минорных аллелей. Линейные эффекты биомаркеров начального момента времени в отношении показателя PFS оценивали с использованием модели пропорциональных рисков Кокса со следующими независимыми ковариатами: общее состояние (0-1 против 2) по шкале Восточной объединенной группы онкологов (ECOG), метастазы только в печени (да/нет) и число органов с отдаленными метастазами (1 против >1), влияние лечения, влияние биомаркера и влияние взаимосвязи биомаркер-лечение. Значимость последних двух влияний исследовали одновременно с использованием критерия Вальда с двумя степенями свободы. Дополненные статистические методики описаны в дополнительных методиках.

Результаты

Из 236 пациентов популяции ITT в клиническом исследовании AFFIRM, 227 (96%) оценивали в отношении ответа. Из них 130 (57%) предоставили по меньшей мере один биологический образец, 60 (46%) и 70 (54%) из которых участвовали в группах mFOLFOX6 и mFOLFOX6 плюс афлиберцепт соответственно. Отсутствовало существенное различие в уровне ложноположительных результатов (FDR)-скорректированного *P*-значения, составляющего 0,05, между пациентами, которые предоставляли биологический образец, и теми, которые его не предоставили, с учетом биометрических характеристик пациентов, этнической принадлежности и характеристик заболеваний в начальный момент времени, или в конечных точках эффективности и безопасности (таблица 1). Из тех, кто предоставил по меньшей мере один биологический образец, 51 (39%) предоставил образцы для анализа каждого из 3 типов биомаркеров, при этом 88 (68%) и 97 (74%) пациентов предоставили образцы для анализа 2 или 1 типов биомаркера соответственно. Каждый тип биомаркера анализировали по отдельности с тем, чтобы исключить группы пациентов, которые были слишком маленькими для субанализа.

Анализ показателей плазмы крови в отношении эффективности

Уровни 27 маркеров в плазме крови измеряли в разные моменты времени (т.е., нв начальный момент времени [87 пациентов]); через

30 и 60 дней после начала лечения [82 и 73 пациента]; и через 30 дней после последнего лечения [56 пациентов]), как указано в таблице 5.

Таблица 5: число наблюдений на момент времени - всего, ниже предела количественного определения (LOQ) и выявления (LOD)

	Начальный момент времени			День 30			День 60			ЕОТ+30 дней		
	Общее количество	<LOQ	<LOD	Общее количество	<LOQ	<LOD	Общее количество	<LOQ	<LOD	Общее количество	<LOQ	<LOD
ANGPT1	87	1	1	80	1	0	73	0	0	56	0	0
ANGPT2	86	1		82	1		72	0		55	1	
CSF2	84	28	17	80	38	16	72	32	17	54	25	16
CXCL12	86	0	0	82	2	2	72	0	0	55	0	0
FGF1	87	14	14	80	16	16	73	18	18	56	8	8
Эндостатин	87			80			73			56		
FGF2	87	19	11	80	20	15	73	19	11	56	10	5
FIGF	87	12	12	80	4	4	73	1	1	56	1	1
HGF	86	0	0	82	7	7	72	1	1	55	1	1
IFNG	84	6	4	80	8	3	72	6	2	54	11	8
IL10	84	0	0	80	1	1	72	2	2	54	0	0
IL12	84	3	3	80	1	1	72	3	3	54	8	7
IL1B	84	1	1	80	0	0	72	1	1	54	4	4
IL2	84	3	2	80	3	1	72	1	1	54	8	6
IL4	84	2	2	80	1	1	72	2	2	54	7	7
IL5	84	2	1	80	3	0	72	1	0	54	1	1
IL6	84	0	0	80	2	1	72	0	0	54	1	1
IL8	84	0	0	80	1	1	72	0	0	54	0	0
PGF	87	8	8	80	6	6	73	2	2	56	1	1
TNF	84	2	1	80	2	1	72	1	0	54	2	1
PDGFA	87			80			73			56		
VEGFA	84	6	1	80	4	1	72	2	0	54	4	0
PDGFB	87			80			73			56		
VEGFC	86	1	1	82	0	0	72	0	0	55	1	0
sFLT4	86	0	0	82	7	7	72	1	1	55	1	1
THBS2	87			80			73			56		
sKDR	86	0	0	82	7	7	72	1	1	55	1	1

Все цитокины измеряли в пг/мл, однако задействовали некоторые преобразования, когда было необходимо получить симметрическое распределение или меньшие числовые значения (нг/мг) для ассоциативных моделей, как представлено в таблице 6.

Таблица 6 - выбранные преобразования исходных уровней цитокинов в плазме крови (пг/мл)

Цитокин	Преобразование
ANGPT1	логарифм

ANGPT2	логарифм
CSF2	квадратный корень
CXCL12	нг/мл
FGF1	кубический корень
Эндостатин	логарифм
FGF2	квадратный корень
FIGF	кубический корень
HGF	логарифм
IFNG	квадратный корень
IL10	кубический корень
IL12	отсутствует
IL1B	кубический корень
IL2	квадратный корень
IL4	отсутствует
IL5	логарифм
IL6	логарифм
IL8	логарифм
PGF	нг/мл
TNF	квадратный корень
PDGFA	логарифм
VEGFA	логарифм
PDGFB	логарифм
VEGFC	логарифм
sFLT4	квадратный корень (нг/мл)
THBS2	логарифм
sKDR	квадратный корень (нг/мл)

Мы оценивали ассоциацию каждого маркера в плазме крови в начальный момент времени с показателем PFS, принимая во внимание при этом взаимосвязь с лечением (таблица 7). Наиболее низкое P -значение получили для IL8 ($P=0,0211$; $FDR=0,596$ и $P=0,0218$ для взаимосвязи).

Таблица 7. Влияние биомаркеров в плазме крови в начальный момент времени на PFS Показаны P -значения, ассоциированные с сочетанным влиянием, FDR-корректированным сочетанным влиянием, влиянием биомаркеров в плазме крови и эффектом взаимосвязи биомаркера и лечения.

Белок	Сочетанное влияние	P-значения		
		FDR-скорректированное сочетанное влияние	Влияние уровня маркеров в плазме крови	Эффект взаимосвязи уровня маркеров в плазме крови и лечения
IL8	0,0221	0,5962	0,6701	0,0218
THBS2	0,1408	0,6523	0,0545	0,2234
CXCL12	0,1610	0,6523	0,0573	0,1640
IL10	0,1669	0,6523	0,0647	0,1311
Ang1	0,1768	0,6523	0,0724	0,0831
FIGF	0,1974	0,6523	0,6826	0,1704
FGF2	0,2063	0,6523	0,1722	0,0768

Белок	P-значения			
	Сочетанное влияние	FDR-скорректированное сочетание влияние	Влияние уровня маркеров в плазме крови	Эффект взаимосвязи уровня маркеров в плазме крови и лечения
sVEGFR2	0,2171	0,6523	0,1616	0,0812
PDGFA	0,2474	0,6523	0,1155	0,1052
IL6	0,2689	0,6523	0,1061	0,1838
FGF1	0,3185	0,6523	0,4759	0,1536
VEGF-A	0,3202	0,6523	0,2549	0,7133
CSF2	0,3272	0,6523	0,4278	0,1679
IL12	0,3587	0,6523	0,3664	0,1808
IFNg	0,3855	0,6523	0,8662	0,2984
IL4	0,3866	0,6523	0,7326	0,4796
PlGF	0,5008	0,7955	0,3018	0,2595
PDGFB	0,5442	0,8163	0,4795	0,2963
IL1B	0,6025	0,8439	0,3183	0,3595
HGF	0,6286	0,8439	0,3369	0,5093
IL2	0,6564	0,8439	0,7696	0,4093
Эндостатин	0,9021	0,9783	0,7429	0,9824
sFLT4	0,9063	0,9783	0,6849	0,8668
TNF	0,9461	0,9783	0,8736	0,7442
Ang2	0,9698	0,9783	0,9279	0,9747
VEGF-C	0,9772	0,9783	0,8375	0,8307
IL5	0,9783	0,9783	0,8813	0,8501

Модель регрессии Кокса предполагает линейную взаимосвязь маркера в плазме крови и логарифма функции риска PFS, но поскольку эта гипотеза может быть нарушена при проведении анализа маркеров в непрерывном режиме, которые значительно изменяются, пороговый эффект может быть более релевантным. Мы изучили данную возможность посредством поиска оптимального порога отсечения, который максимально увеличивает взаимосвязь лечения и уровня маркера в плазме крови. Для IL8 оптимальный порог отсечения был на уровне 19 пг/мл (77-й перцентиль). Модель, в которой IL8 анализировали в качестве двоичной переменной с данным порогом, подходила в большей степени, чем модель с непрерывным анализом уровней IL8 (AIC 469,3 против 477,6). Пациенты с низкими уровнями IL8 (≤ 19 пг/мл, 77% пациентов) характеризовались более длительным показателем PFS в группе с афлиберцептом/mFLOFOX6, чем в группе с mFOLFOX6 (таблица 8).

Таблица 8. Оценка влияния биомаркеров согласно методике Каплана-Мейера на PFS в месяцах

	mFOLFOX6 Медиана (99% CI)	Афлиберцепт плюс mFOLFOX6 Медиана (99% CI)	Соотношение рисков в сравнении с mFOLFOX6 (99% CI)
Белки-маркеры в плазме крови			
Все пациенты	8,8 (6,57- 10,02)	8,5 (6,67-10,05)	0,979 (0,505-1,897)
IL8 ≤ 19 пг/мл	8,8 (5,62- 10,91)	9,3 (7,52-11,10)	0,764 (0,363-1,607)
IL8 > 19 пг/мл	8,8 (5,09- 15,64)	4,1 (2,33-8,54)	2,71 (0,735-9,984)

CI, доверительный интервал; mt, мутант; wt, дикий тип.

Мы также анализировали, можно ли было по изменениям маркеров в плазме крови, связанным с лечением, прогнозировать результат лечения афлиберцептом. Модель Кокса включала влияние уровней биомаркеров в плазме крови в начальный момент времени и различие в экспрессии, которую измеряли в начальный момент времени и в последний момент времени перед прекращением лечения, началом прогрессирования заболевания или летальным исходом (т.е., в дни 30 или 60 лечения), принимая во внимание взаимосвязь с группой пациентов, получающих лечение. IL8 являлся единственным маркером со значимым влиянием при изменении от начального момента времени в отношении показателя PFS ($P=0,0018$; $FDR=0,0478$; таблица 9). Данный эффект не отличался между группами пациентов, получающих лечение ($P=0,2028$). Высокие уровни IL8 в начальный момент времени или повышенные уровни IL8 после начального момента времени соответствовали более высокой вероятности прогрессирования заболевания в момент времени 12 месяцев (фигуры 1 и 2).

Таблица 9. Влияние изменений уровней маркеров в плазме крови от начального момента времени на показатель PFS Показаны P -значения (и FDR) сочетанного влияния маркеров в плазме крови и лечения при взаимосвязи маркеров в плазме крови. Также представлены P -значения для изменения от начального момента времени и взаимосвязь.

Белок	P-значения			
	Сочетанное влияние	Сочетанное влияние FDR-скорректированное	Изменение от влияния в начальный момент времени	Эффект взаимосвязи уровня маркеров в начальный момент времени и лечения
IL8	0,0018	0,0478	0,0006	0,2028
IL10	0,0342	0,4525	0,5214	0,8204
VEGFA	0,0619	0,4525	0,0189	0,0704
CXCL12	0,0670	0,4525	0,1714	0,0318
CSF2	0,0855	0,4619	0,0266	0,1682
VEGFC	0,1127	0,5072	0,0742	0,9355
IL5	0,1886	0,7275	0,0684	0,1657
Эндостатин	0,2418	0,7882	0,9988	0,2668
PDGFA	0,3092	0,7882	0,1508	0,9922
TNF	0,3209	0,7882	0,1770	0,1554
IL4	0,3211	0,7882	0,1938	0,7631
FGF2	0,3851	0,8191	0,6468	0,3957
sFLT4	0,3944	0,8191	0,2533	0,1729
THBS2	0,4677	0,8426	0,2387	0,6683
FGF1	0,4770	0,8426	0,4669	0,2242
PGF	0,4993	0,8426	0,2501	0,2755
ANGPT2	0,5638	0,8924	0,3373	0,8394
IL1B	0,6261	0,8924	0,3345	0,5414
PDGFB	0,6583	0,8924	0,3730	0,6009
IL12	0,6611	0,8924	0,7934	0,7744
IL2	0,7984	0,9482	0,9352	0,6027
sKDR	0,8375	0,9482	0,6009	0,5613
HGF	0,8383	0,9482	0,5804	0,5665
IFNG	0,8559	0,9482	0,6923	0,9101
ANGPT1	0,8814	0,9482	0,6269	0,8538
FIGF	0,9131	0,9482	0,6838	0,7528
IL6	0,9963	0,9963	0,9893	0,9594

Когда биомаркеры в плазме крови измеряли только в начальный момент времени, IL8 оказывал наиболее значительное влияние на показатель PFS, что было лучше всего описано в виде порогового влияния с высоким уровнем циркулирующего в крови IL8 (IL8>19 пг/мл), связанным с более коротким показателем PFS у пациентов, которых лечили афлиберцептом.

Когда биомаркеры в плазме измеряли в начальный момент времени и в ходе лечения, высокие уровни циркулирующего в крови IL8 в начальный момент времени вместе с повышенными уровнями

IL8, измеренными в ходе лечения, были значимо связаны со сниженным показателем PFS (FDR=0,0478).

ВЫВОДЫ

Мы установили, что высокие уровни IL8 в начальный момент времени связаны с более короткими показателями времени выживаемости, и пациенты с повышающимися в ходе лечения уровнями IL8 более подвержены прогрессированию заболевания.

Это свидетельствует о том, что пациенты с высокими уровнями IL8 в начальный момент времени или в ходе лечения подвергаются повышенному риску прогрессирования заболевания в ходе терапии афлиберцептом.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> SANOFI

<120> СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ЛЕЧЕНИЯ АФЛИБЕРЦЕПТОМ ПАЦИЕНТА,
ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО СТРАДАЮЩЕГО ОТ РАКА

<130> FR2014-007 EP

<160> 2

<170> PatentIn версия 3.5

<210> 1

<211> 431

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Аfliберцепт

<400> 1

Ser Asp Thr Gly Arg Pro Phe Val Glu Met Tyr Ser Glu Ile Pro Glu
1 5 10 15

Ile Ile His Met Thr Glu Gly Arg Glu Leu Val Ile Pro Cys Arg Val
20 25 30

Thr Ser Pro Asn Ile Thr Val Thr Leu Lys Lys Phe Pro Leu Asp Thr
35 40 45

Leu Ile Pro Asp Gly Lys Arg Ile Ile Trp Asp Ser Arg Lys Gly Phe
50 55 60

Ile Ile Ser Asn Ala Thr Tyr Lys Glu Ile Gly Leu Leu Thr Cys Glu
65 70 75 80

Ala Thr Val Asn Gly His Leu Tyr Lys Thr Asn Tyr Leu Thr His Arg
85 90 95

Gln Thr Asn Thr Ile Ile Asp Val Val Leu Ser Pro Ser His Gly Ile
100 105 110

Glu Leu Ser Val Gly Glu Lys Leu Val Leu Asn Cys Thr Ala Arg Thr
115 120 125

Glu Leu Asn Val Gly Ile Asp Phe Asn Trp Glu Tyr Pro Ser Ser Lys
130 135 140

His Gln His Lys Lys Leu Val Asn Arg Asp Leu Lys Thr Gln Ser Gly
145 150 155 160

Ser Glu Met Lys Lys Phe Leu Ser Thr Leu Thr Ile Asp Gly Val Thr

165

170

175

Arg Ser Asp Gln Gly Leu Tyr Thr Cys Ala Ala Ser Ser Gly Leu Met
 180 185 190

Thr Lys Lys Asn Ser Thr Phe Val Arg Val His Glu Lys Asp Lys Thr
 195 200 205

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 210 215 220

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 225 230 235 240

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 245 250 255

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 260 265 270

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 275 280 285

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 290 295 300

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 305 310 315 320

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 325 330 335

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 340 345 350

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 355 360 365

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 370 375 380

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 385 390 395 400

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 405 410 415

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

420

425

430

<210> 2
<211> 99
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Thr Ser Lys Leu Ala Val Ala Leu Leu Ala Ala Phe Leu Ile Ser
1 5 10 15

Ala Ala Leu Cys Glu Gly Ala Val Leu Pro Arg Ser Ala Lys Glu Leu
20 25 30

Arg Cys Gln Cys Ile Lys Thr Tyr Ser Lys Pro Phe His Pro Lys Phe
35 40 45

Ile Lys Glu Leu Arg Val Ile Glu Ser Gly Pro His Cys Ala Asn Thr
50 55 60

Glu Ile Ile Val Lys Leu Ser Asp Gly Arg Glu Leu Cys Leu Asp Pro
65 70 75 80

Lys Glu Asn Trp Val Gln Arg Val Val Glu Lys Phe Leu Lys Arg Ala
85 90 95

Glu Asn Ser

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение интерлейкина-8 (IL-8) в качестве биомаркера для прогнозирования результата лечения афлиберцептом или зив-афлиберцептом пациента, предположительно страдающего от рака.

2. Способ определения того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом указанного рака, предусматривающий стадию проведения по меньшей мере одного анализа биологического образца пациента для измерения уровня IL-8 в начальный момент времени, где, если уровень IL-8 в биологическом образце является низким по отношению к эталонному уровню экспрессии IL-8, то пациента определяют как кандидата для противораковой терапии.

3. Способ определения того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом указанного рака, предусматривающий стадию проведения по меньшей мере одного анализа биологического образца пациента для измерения уровня IL-8 в начальный момент времени, где, если уровень IL-8 в биологическом образце является высоким по отношению к эталонному уровню экспрессии IL-8, то пациента определяют как не являющегося кандидатом для противораковой терапии.

4. Способ лечения пациента с раком с помощью афлиберцепта или зив-афлиберцепта, предусматривающий введение пациенту терапевтически эффективного количества афлиберцепта или зив-афлиберцепта, где уровень IL-8 в биологическом образце пациента является ниже эталонного уровня экспрессии IL-8.

5. Способ по любому из пп. 2-4, где уровень, измеренный по отношению к эталонному уровню экспрессии IL-8, находится в диапазоне от приблизительно 10 до приблизительно 30 пг/мл.

6. Способ по любому из пп. 2-5, где уровень, измеренный по отношению к эталонному уровню экспрессии IL-8, составляет приблизительно 19 пг/мл.

7. Способ оптимизации терапевтической эффективности лечения рака, предусматривающий стадии

введения афлиберцепта или зив-афлиберцепта пациенту, предположительно страдающему от рака; и

определения уровня интерлейкина-8 (IL-8) в биологическом образце пациента,

где повышение уровня интерлейкина-8 (IL-8) свидетельствует о необходимости снизить количество афлиберцепта или зив-афлиберцепта при последующих введениях.

8. Способ управления риском для обеспечения возможности безопасного применения афлиберцепта или зив-афлиберцепта в лечении пациента, предположительно страдающего от рака, при этом указанный способ предусматривает следующие стадии:

(a) определения уровня интерлейкина-8 (IL-8) в биологическом образце от пациента до начала лечения афлиберцептом или зив-афлиберцептом;

(b) определения уровня интерлейкина-8 (IL-8) в биологическом образце от пациента в ходе лечения;

(c) сравнения уровня интерлейкина-8 (IL-8), определенного на стадии (b), с уровнем, определенным на стадии (a),

при этом более высокий уровень интерлейкина-8 (IL-8) в образце из стадии (b) по сравнению с уровнем в образце из стадии (a) свидетельствует о необходимости проведения тщательного мониторинга пациента.

9. Способ по любому из пп. 2-8, где биологический образец выбран из группы, состоящей из крови, сыворотки и плазмы крови.

10. Способ по любому из пп. 2-8, где рак представляет собой рак толстого кишечника, колоректальный рак или рак прямой кишки.

11. Способ по п. 10, где колоректальный рак представляет собой метастатический колоректальный рак.

12. Способ по любому из пп. 2-8, где определяемый уровень интерлейкина-8 (IL-8) представляет собой уровень циркулирующего в крови интерлейкина-8.

13. Способ по любому из пп. 4-6, причем указанный способ предусматривает введение указанному пациенту терапевтически эффективных количеств афлиберцепта или зив-афлиберцепта, оксалиплатина, 5-фторурацила (5-FU) и фолиниевой кислоты.

14. Способ по любому из пп. 4-6, где указанный способ предусматривает введение указанному пациенту терапевтически эффективных количеств афлиберцепта или зив-афлиберцепта, фолиниевой кислоты, 5-фторурацила (5-FU) и ириноцетана.

15. Способ по любому из пп. 4-6, где указанного пациента ранее подвергали лечению с помощью терапии на основе оксалиплатина или бевацизумаба.

16. Способ по любому из пп. 4-6, где химиотерапия, лучевая терапия или хирургическое вмешательство у указанного пациента были неудачными.

17. Способ по любому из пп. 4-6, где пациенту вводят фолиниевую кислоту в дозе, находящейся в диапазоне от приблизительно 200 мг/м² до приблизительно 600 мг/м², 5-фторурацил (5-FU) в дозе, находящейся в диапазоне от приблизительно 2000 мг/м² до приблизительно 4000 мг/м², ириноцетан в дозе, находящейся в диапазоне от приблизительно 100 мг/м² до приблизительно 300 мг/м², и афлиберцепт в дозе, находящейся в диапазоне от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг.

18. Способ по любому из пп. 4-6 и п. 17, где пациенту вводят фолиниевую кислоту в дозе, составляющей приблизительно 400 мг/м², 5-фторурацил (5-FU) в дозе, составляющей приблизительно 2800 мг/м², ириноцетан в дозе, составляющей приблизительно 180 мг/м², и афлиберцепт в дозе, составляющей приблизительно 4 мг/кг.

19. Способ по любому из пп. 4-6, п. 17 и п. 18, где фолиниевую кислоту вводят внутривенно в дозе, составляющей приблизительно 400 мг/м², 5-фторурацил (5-FU) вводят внутривенно в дозе, составляющей приблизительно 2800 мг/м², ириноцетан вводят внутривенно в дозе, составляющей приблизительно 180 мг/м², и афлиберцепт вводят внутривенно в дозе, составляющей приблизительно 4 мг/кг, и при этом комбинацию вводят каждые две недели.

20. Способ по любому из пп. 4-6 и пп. 17-19, где фолиниевую кислоту, 5-фторурацил (5-FU), ириноцетан и афлиберцепт вводят

внутривенно каждые две недели в течение периода, находящегося в диапазоне от 9 до 18 недель.

21. Способ по любому из пп. 4-6 и пп. 17-20, где фолиниевую кислоту вводят внутривенно непосредственно после введения афлиберцепта.

22. Способ по любому из пп. 4-6 и пп. 17-21, где фолиниевую кислоту вводят внутривенно непосредственно после введения афлиберцепта в течение периода, составляющего приблизительно 2 часа.

23. Афлиберцепт или зив-афлиберцепт для лечения пациента, предположительно страдающего от рака, где уровень IL-8 в биологическом образце пациента является ниже эталонного уровня экспрессии IL-8.

24. Набор для прогнозирования того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом, при этом набор содержит

- a) средства для измерения уровня интерлейкина-8 (IL-8) и
- b) необязательно инструкцию, предоставляющую указания по применению указанного набора в прогнозировании того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом.

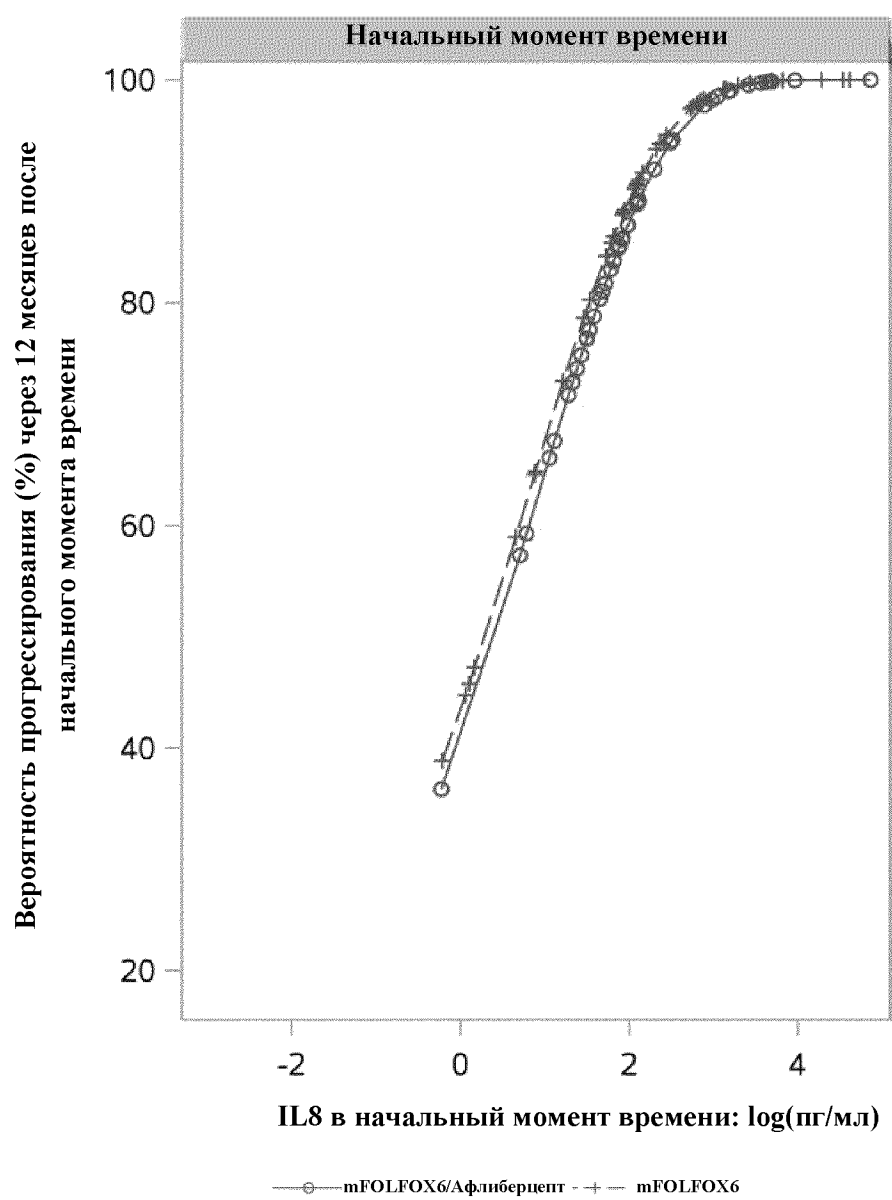
25. Изделие, содержащее

- a) упаковочный материал;
- b) средства для измерения уровня интерлейкина-8 (IL-8) и
- c) инструкцию, предоставляющую указания по применению указанного набора в прогнозировании того, является ли пациент, предположительно страдающий от рака, кандидатом для терапии афлиберцептом или зив-афлиберцептом.

По доверенности

1/2

Фигура 1



Фигура 2

