

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **040947**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.08.23

(51) Int. Cl. *C12N 15/113* (2010.01)
A61K 31/713 (2006.01)

(21) Номер заявки
201991001

(22) Дата подачи заявки
2017.10.18

(54) СПОСОБЫ ПРОФИЛАКТИКИ ЯВЛЕНИЙ СО СТОРОНЫ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПОСРЕДСТВОМ СНИЖЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА ПРОПРТЕИНОВОЙ КОНВЕРТАЗЫ СУБТИЛИЗИН-КЕКСИНОВОГО ТИПА 9 (PCSK9)

(31) 62/409,816; 62/422,028; 62/472,525;
62/550,426

(32) 2016.10.18; 2016.11.14; 2017.03.16;
2017.08.25

(33) US

(43) 2019.09.30

(86) PCT/US2017/057218

(87) WO 2018/075658 2018.04.26

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
НОВАРТИС АГ (СН)

(72) Изобретатель:
**Виджнгаард Питер, Калленд Дэвид
(US)**

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

(56) WO-A1-2014089313

LADEIRAS-LOPES RICARDO ET AL:
"Atherosclerosis: Recent trials, new targets and future directions", INTERNATIONAL JOURNAL OF CARDIOLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 192, 8 May 2015 (2015-05-08), pages 72-81, XP029174409, ISSN: 0167-5273, DOI: 10.1016/J.IJCARD.2015.05.013 page 73 - page 74; table 1

JAMES M. MCKENNEY: "Understanding PCSK9 and anti-PCSK9 therapies", JOURNAL OF CLINICAL LIPIDOLOGY, vol. 9, no. 2, 1 March 2015 (2015-03-01), pages 170-186, XP055437114, US ISSN: 1933-2874, DOI: 10.1016/j.jacl.2015.01.001 the whole document

(57) Способ снижения содержания холестерина липопротеинов низкой плотности или профилактики кардиального события у субъекта, который характеризуется наличием атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания или представляет собой эквивалент риска атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания, предусматривающий введение субъекту профилактически эффективного количества средства РНКи. Кроме того, предусмотрен способ профилактики развития атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания у субъекта, предусматривающий введение субъекту профилактически эффективного количества средства РНКи. Более того, предусмотрен способ лечения субъекта, который характеризуется наличием атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания или представляет собой эквивалент риска атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания, предусматривающий введение субъекту терапевтически эффективного количества средства РНКи.

040947
B1

040947
B1

Родственные заявки

Согласно настоящей заявке испрашивается преимущество в соответствии с предварительной заявкой на выдачу патента США № 62/409816, поданной 18 октября 2016 г.; предварительной заявкой на выдачу патента США № 62/422028, поданной 14 ноября 2016 г.; предварительной заявкой на выдачу патента США № 62/472525, поданной 16 марта 2017 г.; и предварительной заявкой на выдачу патента США № 62/550426, поданной 25 августа 2017 г.; причем полное содержание каждой из указанных предварительных заявок на выдачу патента включено в настоящий документ посредством ссылки.

Настоящая заявка также относится к предварительной заявке на выдачу патента США № 62/209526 поданной 25 августа 2015; заявке согласно РСТ № РСТ/US2016/048666, поданной 25 августа 2016 г.; предварительной заявке на выдачу патента США № 61/733518, поданной 5 декабря 2012 г.; предварительной заявке на выдачу патента США № 61/793530, поданной 15 марта 2013 г.; предварительной заявке на выдачу патента США № 61/886916, поданной 4 октября 2013 г.; предварительной заявке на выдачу патента США № 61/892188, поданной 17 октября 2013 г.; заявке согласно РСТ № РСТ/US2013/073349, поданной 5 декабря 2013 г., и заявке на выдачу патента США № 14/650128, поданной 5 июня 2015 г.; причем полное содержание каждой из указанных предварительных заявок на выдачу патента и заявок согласно РСТ включено в настоящий документ посредством ссылки.

Перечень последовательностей

Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, который подан в электронном виде в формате ASCII (Американский стандартный код обмена информацией) и тем самым полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Указанная копия согласно ASCII, созданная 18 октября 2017 г., носит название A115-2_3_SL.txt и характеризуется размером, составляющим 1799 байт.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

Атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (ASCVD) остается проблемой для всемирного здравоохранения. Атеросклероз, системный патологический процесс, отмеченный скоплением жировых отложений, воспалительных клеток и рубцовой ткани в стенках артерий, является основной причиной большинства клинических явлений со стороны сердечно-сосудистой системы. Несмотря на то, что были разработаны различные виды лечения и профилактические меры, снижение содержания холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП, LDL-C) остается проверенной стратегией борьбы с ASCVD. С этой целью статины являются широко используемой терапией для снижения содержания липидов, но у многих подверженных риску лиц по-прежнему наблюдается повышенные содержания ХС-ЛПНП.

Недавно идентифицировали пропротеиновую конвертазу субтилизин-кексинового типа 9 (PCSK9) в качестве мишени для снижения содержаний ХС-ЛПНП. PCSK9 является представителем семейства субтилизин-сериновых протеаз и, как показано, она играет роль в метаболизме холестерина.

Были разработаны моноклональные антитела, блокирующие PCSK9, и было продемонстрировано, что они снижают содержания циркулирующей PCSK9 и снижают концентрации ХС-ЛПНП. Но моноклональные антитела к PCSK9 характеризуются короткой продолжительностью действия, что может значительно увеличивать нагрузку с точки зрения введения, а также финансовых расходов.

Следовательно, в настоящей области техники существует потребность в эффективных способах лечения или профилактических мерах, направленных на снижение содержаний ХС-ЛПНП и, в конечном счете, на лечение или профилактику ASCVD.

Краткое раскрытие настоящего изобретения

Настоящее изобретение относится к применению средства РНК-интерференции (РНКи), которое ингибирует синтез PCSK9 в профилактических или терапевтических способах для нуждающихся в этом субъектов.

Согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к способу снижения содержания ХС-ЛПНП у субъекта. Способ предусматривает введение субъекту эффективного количества средства РНКи, причем средство РНКи представляет собой двухцепочечную рибонуклеиновую кислоту, содержащую смысловую цепь и антисмысловую цепь, которая образует двухцепочечную область. Антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 3, и смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 4.

Согласно другому аспекту настоящее изобретение относится к способу профилактики явления со стороны сердечно-сосудистой системы у субъекта. Способ предусматривает введение субъекту эффективного количества средства РНКи, причем средство РНКи представляет собой двухцепочечную рибонуклеиновую кислоту, содержащую смысловую цепь и антисмысловую цепь, которая образует двухцепочечную область. Антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 3, и смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 4.

Согласно другому аспекту настоящее изобретение относится к способу снижения смертности от сердечно-сосудистых заболеваний и/или заболеваемости сердечнососудистыми заболеваниями у субъекта. Способ предусматривает введение субъекту эффективного количества средства РНКи, причем средство РНКи представляет собой двухцепочечную рибонуклеиновую кислоту, содержащую смысловую цепь и антисмысловую цепь, которая образует двухцепочечную область. Антисмысловая цепь содержит

нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 3, и смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 2.

Согласно определенным вариантам осуществления субъект может характеризоваться наличием ASCVD, эквивалента риска ASCVD, повышенного риска в отношении сердечнососудистого заболевания (CVD), гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии или гомозиготной семейной гиперхолестеринемии, нуждается в снижении холестерина липопротеинов низкой плотности, или иным образом характеризуется наличием нарушения, которое получит благоприятный эффект от снижения содержания ХС-ЛПНП, или может характеризоваться их комбинацией.

Согласно дополнительному аспекту настоящее изобретение относится к способу профилактики развития ASCVD. Способ предусматривает введение субъекту эффективного количества средства РНКи, причем средство РНКи представляет собой двухцепочечную рибонуклеиновую кислоту, содержащую смысловую цепь и антисмысловую цепь, которая образует двухцепочечную область. Антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 3, и смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 4.

Согласно другому аспекту настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта, который характеризуется наличием ASCVD, эквивалента риска ASCVD, повышенного риска в отношении CVD, гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии, гомозиготной семейной гиперхолестеринемии, нуждается в снижении содержания ХС-ЛПНП или характеризуется их комбинацией. Способ предусматривает введение субъекту эффективного количества средства РНКи, причем средство РНКи представляет собой двухцепочечную рибонуклеиновую кислоту, содержащую смысловую цепь и антисмысловую цепь, которая образует двухцепочечную область. Антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 3, и смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 4.

Согласно определенным вариантам осуществления способы предусмотрены для лечения острого коронарного синдрома и/или высоких содержаний ХС-ЛПНП.

Согласно некоторым вариантам осуществления субъект может характеризоваться исходным содержанием ХС-ЛПНП, составляющим больше чем приблизительно 70 мг/дл, таким как приблизительно 100 мг/дл.

Согласно определенным вариантам осуществления субъекту вводят больше чем одну дозу средства РНКи. Например, субъекту можно вводить несколько доз средства РНКи. Согласно некоторым вариантам осуществления субъекту вводят дозы средства РНКи через регулярные интервалы времени, например приблизительно один раз в неделю, приблизительно один раз в две недели, приблизительно один раз в месяц, приблизительно один раз в два месяца, приблизительно один раз в три месяца, приблизительно один раз в четыре месяца, приблизительно один раз в шесть месяцев, приблизительно один раз в год и т.д.

Согласно определенным вариантам осуществления способы предусматривают оценку субъекта до введения средства РНКи. Оценка может предусматривать измерение одного или нескольких биохимических параметров субъекта, включая в себя липидные параметры. Примеры параметров, которые можно измерять до введения средства РНКи, включают в себя содержания ХС-ЛПНП, холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП), PCSK9, общего холестерина, триглицеридов, ХС не-ЛПВП, холестерина липопротеинов очень низкой плотности (ХС-ЛПОНП), аполипопротеина А1 (Аро-А1), аполипопротеина В (Аро-В), липопротеина (а) (Lp(a)), С-реактивного белка (CRP), гликированного гемоглобина А1с, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, щелочной аминотрансферазы, креатинкиназы и общего билирубина. Согласно некоторым вариантам осуществления оценка субъекта до введения средства РНКи обеспечивает исходное измерение биохимических параметров. Согласно определенным вариантам осуществления оценка субъекта до введения средства РНКи определяет и/или влияет на введение средства РНКи, например, на количество средства РНКи, время введения средства РНКи и т.д.

Согласно определенным вариантам осуществления способы предусматривают оценку субъекта между одной или несколькими дозами средства РНКи. Оценка может предусматривать проведение измерений одного или нескольких биохимических параметров субъекта, включая в себя липидные параметры. Примеры параметров, которые можно измерять между одной или несколькими дозами средства РНКи, включают в себя содержания ХС-ЛПНП, ХС-ЛПВП, PCSK9, общего холестерина, триглицеридов, ХС не-ЛПВП, ХС-ЛПОНП, Аро-А1, Аро-В, Lp(a), CRP, гликированного гемоглобина А1с, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, щелочной аминотрансферазы, креатинкиназы и общего билирубина. Согласно некоторым вариантам осуществления результаты оценки могут определять и/или влиять на последующее введение или последующие введения средства РНКи, например на количество средства РНКи, время введения средства РНКи и т.д.

Согласно некоторым вариантам осуществления введения средства РНКи снижает содержание ХС-ЛПНП больше чем приблизительно на 20% по сравнению с исходным содержанием ХС-ЛПНП. Согласно определенным вариантам осуществления снижения содержания ХС-ЛПНП больше чем приблизительно на 20% по сравнению с исходным содержанием поддерживается в течение, до или вплоть до 15 дней или более после введения средства РНКи.

Согласно некоторым вариантам осуществления введение средства РНКи снижает содержание PCSK9 больше чем приблизительно на 25% по сравнению с исходным содержанием PCSK9. Согласно определенным вариантам осуществления снижение содержания PCSK9 больше чем приблизительно на 25% по сравнению с исходным содержанием поддерживается в течение, до или вплоть до 30 дней или более после введения средства РНКи.

Согласно некоторым вариантам осуществления субъект может проходить фоновую гиполипидемическую терапию, такую как статины. Согласно определенным вариантам осуществления субъекту вводят средство РНКи, продолжая фоновую гиполипидемическую терапию. Согласно определенным вариантам осуществления субъект может проходить максимально переносимую терапию статинами. Альтернативно субъект может принимать эзетимиб или проходить аферез ЛПНП.

Согласно другим вариантам осуществления субъект не проходит фоновую гиполипидемическую терапию.

Согласно определенным вариантам осуществления у субъекта отсутствует активное заболевание печени. Например, субъект может не проявлять исходное содержание аланинаминотрансферазы и/или аспаргатаминотрансферазы, которое больше чем в 2 раза превышает верхнюю границу нормального диапазона (ULN). Согласно некоторым вариантам осуществления субъект может не проявлять исходное содержание общего билирубина, которое больше чем в 1,5 раза превышает ULN.

Согласно другому аспекту настоящее изобретение относится к средству РНКи для применения в способе: (i) снижения содержания ХС-ЛПНП у субъекта; (ii) профилактики явления со стороны сердечно-сосудистой системы у субъекта; (iii) снижения смертности от сердечно-сосудистых заболеваний и/или заболеваемости сердечно-сосудистыми заболеваниями у субъекта; (iv) профилактики развития ASCVD у субъекта; (v) лечения субъекта, который характеризуется наличием ASCVD, эквивалента риска ASCVD, повышенного риска в отношении CVD, гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии, гомозиготной семейной гиперхолестеринемии, нуждается в снижении содержания ХС-ЛПНП или характеризуется их комбинацией. Средство РНКи представляет собой двухцепочечную рибонуклеиновую кислоту, содержащую смысловую цепь и антисмысловую цепь, которая образует двухцепочечную область. Антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 3, и смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 4. Указанные способы предусматривают введение субъекту эффективного количества средства РНКи.

Настоящее изобретение дополнительно проиллюстрировано следующим подробным раскрытием и графическими материалами.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 показано средство РНКи в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения. На фиг. 1 представлены SEQ ID NO: 4, 3 и 3 соответственно в порядке появления.

На фиг. 2 показано обобщенное представление схемы введения доз, использованной в исследовании, рассмотренном в примере.

На фиг. 3 показано среднее процентное изменение содержания ХС-ЛПНП вплоть до 360 дня после однократного введения средства РНКи в 1 день в виде дозы, составляющей 200 мг, дозы, составляющей 300 мг, и дозы, составляющей 500 мг в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения.

На фиг. 4 показано скорректированное по времени среднее процентное изменение содержания ХС-ЛПНП вплоть до 360 дня после однократного введения средства РНКи в 1 день в виде дозы, составляющей 200 мг, дозы, составляющей 300 мг, и дозы, составляющей 500 мг, и после введения средства РНКи в 1 день и 90 день в виде дозы, составляющей 100, 200 и 300 мг в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения.

На фиг. 5 показано скорректированное по времени среднее абсолютное изменение содержания ХС-ЛПНП вплоть до 360 дня после однократного введения средства РНКи в 1 день в виде дозы, составляющей 200 мг, дозы, составляющей 300 мг, и дозы, составляющей 500 мг, и после введения средства РНКи в 1 день и 90 день в виде дозы, составляющей 100, 200 и 300 мг, в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения.

На фиг. 6А-6В показано процентное изменение содержания ХС-ЛПНП между исходным уровнем и 270 днем (фиг. 6А), и между исходным уровнем и 360 днем (фиг. 6В), отдельных пациентов после однократного введения средства РНКи в 1 день в виде дозы, составляющей 200 мг, дозы, составляющей 300 мг, и дозы, составляющей 500 мг, в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения.

На фиг. 7 показано среднее процентное изменение содержания ХС-ЛПНП вплоть до 360 дня после введения средства РНКи в 1 день и 90 день в виде дозы, составляющей, 100 мг, дозы, составляющей 200 мг, дозы, составляющей 300 мг, в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения.

На фиг. 8 показано процентное изменение содержания ХС-ЛПНП между исходным уровнем и 180 днем отдельных пациентов после введения средства РНКи в 1 день и 90 день в виде дозы, составляющей 300 мг, в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения.

На фиг. 9А-9В показано процентное изменение содержания ХС-ЛПНП между исходным уровнем и 270 днем (фиг. 9А), и между исходным уровнем и 360 днем (фиг. 9В), отдельных пациентов после введе-

ния средства РНКи в 1 день и 90 день в виде дозы, составляющей 100 мг, дозы, составляющей 200 мг, и дозы, составляющей 300 мг, в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения.

На фиг. 10А-10С показано изменение содержания ХС-ЛПНП от исходного уровня до 180 дня для каждого пациента рандомизированно отнесенного к получающей две дозы группе плацебо (61 пациент) (фиг. 10А); изменение содержания ХС-ЛПНП от исходного уровня до 180 дня для каждого пациента, рандомизированно отнесенного к группе, получающей две дозы средства РНКи по 300 мг (59 пациентов) (фиг. 10В); и изменение содержания ХС-ЛПНП от исходного уровня до 240 для каждого пациента, рандомизированно отнесенного к группе, получающей две дозы средства РНКи по 300 мг (59 пациентов) (фиг. 10С), в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения. Пунктирные линии обозначают снижения содержания ХС-ЛПНП на 39 мг на децилитр и 78 мг на децилитр (для перевода значений содержания холестерина в миллимоль на литр умножьте на 0,02586).

На фиг. 11А-11В показано процентное изменение содержания ХС-ЛПНП от исходного уровня до 90 дня и 270 дня отдельных пациентов после введения средства РНКи в 1 день в виде дозы, составляющей 300 мг (фиг. 11А), или после введения средства РНКи в 1 день и 90 день в виде дозы, составляющей 300 мг (фиг. 11В), в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения.

На фиг. 12 показано среднее процентное изменение содержания PCSK9 вплоть до 270 дня после однократного введения средства РНКи в 1 день в виде дозы, составляющей 200 мг, дозы, составляющей 300 мг, и дозы, составляющей 500 мг, в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения.

На фиг. 13 показано среднее процентное изменение содержания PCSK9 вплоть до 270 дня после введения средства РНКи в 1 день и 90 день в виде дозы, составляющей 100 мг, дозы, составляющей 200 мг, и дозы, составляющей 300 мг, в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения.

На фиг. 14 показано смоделированные результаты содержания ХС-ЛПНП вплоть до 22 месяцев после введения средства РНКи, вводимого два раза или три раза в год в виде дозы, составляющей 300 мг, в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения.

Подробное раскрытие настоящего изобретения

Настоящее изобретение основано, по меньшей мере, частично, на применении малых интерферирующих молекул РНК (миРНК) в качестве средства для снижения содержания белка PCSK9, что, в свою очередь, снижает содержания ХС-ЛПНП. Посредством РНК-интерференции миРНК связывается внутриклеточно с индуцируемым РНК комплексом сайленсинга (RISC), что позволяет ему расщеплять информационную РНК (иРНК), которая кодирует PCSK9. Расщепленная иРНК деградирует и, следовательно, является недоступной для трансляции белка, что приводит к снижению содержания белка PCSK9 и, вследствие этого, снижению содержания ХС-ЛПНП.

Соответственно, настоящее изобретение предусматривает способ снижения содержания ХС-ЛПНП у субъекта, причем способ предусматривает введение субъекту эффективного количества, такого как профилактически эффективное количество или терапевтически эффективное количество, средства РНКи. Настоящее изобретение также предусматривает способ профилактики явления со стороны сердечно-сосудистой системы у субъекта, причем способ предусматривает введение субъекту эффективного количества, такого как профилактически эффективное количество или терапевтически эффективное количество, средства РНКи. Кроме того, настоящее изобретение предусматривает способ снижения смертности от сердечно-сосудистых заболеваний и/или заболеваемости сердечно-сосудистыми заболеваниями у субъекта, причем способ предусматривает введение субъекту эффективного количества, такого как профилактически эффективное количество или терапевтически эффективное количество, средства РНКи. Для указанных способов субъект может характеризоваться наличием ASCVD, эквивалента риска ASCVD, повышенного риска в отношении CVD, гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии, гомозиготной семейной гиперхолестеринемии, нуждается в снижении содержания ХС-ЛПНП или может характеризоваться их комбинацией.

Более того, настоящее изобретение предусматривает способ профилактики развития ASCVD у субъекта, причем способ предусматривает введение субъекту эффективного количества, такого как профилактически эффективное количество или терапевтически эффективное количество, средства РНКи.

Кроме того, настоящее изобретение предусматривает способ лечения субъекта, который характеризуется наличием ASCVD, эквивалента риска ASCVD, повышенного риска в отношении CVD, гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии, гомозиготной семейной гиперхолестеринемии, нуждается в снижении содержания ХС-ЛПНП или характеризуется их комбинацией. Способ может предусматривать введение субъекту эффективного количества, такого как профилактически эффективное количество или терапевтически эффективное количество, средства РНКи.

Более того, настоящее изобретение относится к средству РНКи для применения в способах, описанных в настоящем документе, т.е. для применения в снижении содержания ХС-ЛПНП у субъекта; профилактике явления со стороны сердечно-сосудистой системы у субъекта; снижении смертности от сердечно-сосудистых заболеваний и/или заболеваемости сердечно-сосудистыми заболеваниями у субъекта; профилактике развития ASCVD у субъекта; и/или лечении субъекта, который характеризуется наличием ASCVD, эквивалента риска ASCVD, повышенного риска в отношении CVD, гетерозиготной семейной

гиперхолестеринемии, гомозиготной семейной гиперхолестеринемии, нуждается в снижении содержания ХС-ЛПНП или характеризуется их комбинацией.

Согласно некоторым вариантам осуществления явление со стороны сердечнососудистой системы может представлять собой серьезное нежелательное явление со стороны сердечно-сосудистой системы, которое включает в себя без ограничения смерть, нефатальный инфаркт миокарда, тяжелую рецидивирующую ишемию, инсульт, симптоматическую эмболию сосудов легких и кровотечение.

Способ снижения содержания ХС-ЛПНП и/или профилактики явления со стороны сердечно-сосудистой системы может относиться к субъектам, которые характеризуются наличием ASCVD или представляют собой "эквивалент риска ASCVD". Согласно определенным вариантам осуществления субъект может представлять собой "эквивалент риска ASCVD", если он/она характеризуется одним или несколькими из следующего: симптоматический атеросклероз, сахарный диабет 2 типа, семейная гиперхолестеринемия, включая в себя субъектов, чей 10-летний риск явления со стороны сердечно-сосудистой системы, оцениваемый по Фрамингемской шкале риска (балл по шкале >20%), или эквивалент характеризуется целевым содержанием ХС-ЛПНП, составляющим <100 мг/дл. Согласно некоторым вариантам осуществления субъект может характеризоваться гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией.

Способ снижения содержания ХС-ЛПНП и/или профилактики явления со стороны сердечно-сосудистой системы также может относиться к субъектам, которые характеризуются одним или несколькими симптомами или факторами риска того, что субъект характеризуется наличием ASCVD, он является "эквивалентом риска ASCVD" или иным образом характеризуется потенциалом для развития проблем с состоянием здоровья сердца. Такие симптомы/факторы риска могут включать в себя наличие острых коронарных синдромов; наличие в анамнезе инфаркта миокарда, стабильной или нестабильной стенокардии, коронарной или другой артериальной реваскуляризации, инсульта, транзиторной ишемической атаки или заболевания периферических артерий атеросклеротического происхождения; мужской пол; наличие в семейном анамнезе заболевания сердца, ASCVD или эквивалента риска ASCVD; наличие привычки курить; отсутствие физической активности; наличие высокого кровяного давления; наличие высокого содержания холестерина в крови; наличие сахарного диабета или преддиабета; наличие избыточной массы тела или ожирения; наличие в анамнезе преэклампсии во время беременности; наличие неконтролируемого стресса и/или гнева; постменопауза; наличие нездоровой диеты, например диета с высоким содержанием соли, насыщенных жиров, трансжиров, холестерина и/или рафинированных Сахаров; возраст 55 лет или старше; наличие апноэ во сне; наличие анемии; или их комбинация. Следовательно, способ может относиться, например, к субъектам, которые молоды, но характеризуются наличием в семейном анамнезе заболеваний сердца, или субъектов, которые курят, но не характеризуются высоким кровяным давлением. Согласно определенным вариантам осуществления способ может относиться к субъектам, которые ранее испытывали явление со стороны сердца.

Согласно некоторым вариантам осуществления способ согласно настоящему изобретению может представлять собой способ снижения содержания ХС-ЛПНП и/или профилактики явления со стороны сердечно-сосудистой системы у субъекта с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией, причем способ предусматривает введение эффективного количества, такого как профилактически эффективное количество или терапевтически эффективное количество, средства РНКи. Согласно некоторым вариантам осуществления способ согласно настоящему изобретению может представлять собой способ снижения содержания ХС-ЛПНП и/или профилактики явления со стороны сердечно-сосудистой системы у субъекта с ASCVD, причем способ предусматривает введение эффективного количества, такого как профилактически эффективное количество или терапевтически эффективное количество, средства РНКи. Согласно некоторым вариантам осуществления способ согласно настоящему изобретению может представлять собой способ снижения содержания ХС-ЛПНП и/или профилактики явления со стороны сердечно-сосудистой системы у субъекта с эквивалентом риска ASCVD, причем способ предусматривает введение эффективного количества, такого как профилактически эффективное количество или терапевтически эффективное количество, средства РНКи. Согласно некоторым вариантам осуществления способ согласно настоящему изобретению может представлять собой способ снижения содержания ХС-ЛПНП и/или профилактики явления со стороны сердечно-сосудистой системы у субъекта с гомозиготной семейной гиперхолестеринемией, причем способ предусматривает введение эффективного количества, такого как профилактически эффективное количество или терапевтически эффективное количество, средства РНКи. Согласно некоторым вариантам осуществления способ согласно настоящему изобретению может представлять собой способ лечения субъекта с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией, причем способ предусматривает введение эффективного количества, такого как профилактически эффективное количество или терапевтически эффективное количество, средства РНКи. Согласно некоторым вариантам осуществления способ согласно настоящему изобретению может представлять собой способ лечения субъекта с ASCVD, причем способ предусматривает введение эффективного количества, такого как профилактически эффективное количество или терапевтически эффективное количество, средства РНКи. Согласно некоторым вариантам осуществления способ согласно настоящему изобретению может представлять собой способ лечения субъекта с эквивалентом риска ASCVD, причем способ предусматривает введение эффективного количества, такого как профилактически эффективное количество или

терапевтически эффективное количество, средства РНКи. Согласно некоторым вариантам осуществления способ согласно настоящему изобретению может представлять собой способ лечения субъекта с гомозиготной семейной гиперхолестеринемией, причем способ предусматривает введение эффективного количества, такого как профилактически эффективное количество или терапевтически эффективное количество, средства РНКи. Согласно указанным вариантам осуществления средство РНКи может представлять собой двухцепочечную рибонуклеиновую кислоту, содержащую смысловую цепь и антисмысловую цепь, которая образует двухцепочечную область, где антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 3, и смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 4. Субъекты могут находиться на диете, предназначенной для улучшения содержания липидов, и/или могут получать снижающую ЛПНП терапию, такую как статины, эзетимиб, или проходить аферез ЛПНП. Согласно некоторым вариантам осуществления субъект может проходить максимально переносимую терапию статинами. Кроме того, субъекты могут нуждаться в дополнительном снижении содержания ХС-ЛПНП.

Согласно определенным вариантам осуществления введение средства РНКи может снижать содержание ХС-ЛПНП, по сравнению с исходным содержанием ХС-ЛПНП, больше чем приблизительно на 20%, или больше чем приблизительно на 25%, или больше чем приблизительно на 30%, или больше чем приблизительно на 35%, или больше чем приблизительно на 40%, или больше чем приблизительно на 45%, или больше чем приблизительно на 50%, или больше чем приблизительно на 55%, или больше чем приблизительно на 60%.

Согласно некоторым вариантам осуществления снижение содержания ХС-ЛПНП после введения средства РНКи может поддерживаться в течение, до или вплоть до приблизительно 15 дней или более, или приблизительно 20 дней или более, или приблизительно 30 дней или более, или приблизительно 40 дней или более, или приблизительно 50 дней или более, или приблизительно 60 дней или более, или приблизительно 70 дней или более, или приблизительно 80 дней или более, или приблизительно 90 дней или более, или приблизительно 100 дней или более, или приблизительно 110 дней или более, или приблизительно 120 дней или более, или приблизительно 130 дней или более, или приблизительно 140 дней или более, или приблизительно 150 дней или более, или приблизительно 160 дней или более, или приблизительно 170 дней или более, или приблизительно 180 дней или более, или приблизительно 190 дней или более, или приблизительно 200 дней или более, или приблизительно 210 дней или более, или приблизительно 220 дней или более, или приблизительно 230 дней или более, или приблизительно 240 дней или более, или приблизительно 250 дней или более, или приблизительно 260 дней или более, или приблизительно 270 дней или более, или приблизительно 280 дней или более, или приблизительно 290 дней или более, или приблизительно 300 дней или более, или приблизительно 310 дней или более, или приблизительно 320 дней или более, или приблизительно 330 дней или более, или приблизительно 340 дней или более, или приблизительно 350 дней или более, или приблизительно 360 дней или более, после введения средства РНКи.

Введение средства РНКи в количестве дозы, составляющем приблизительно 100 мг, может снижать содержание ХС-ЛПНП, по сравнению с исходным содержанием ХС-ЛПНП, больше чем приблизительно на 15%, или больше чем приблизительно на 20%, к 15 дню. Указанное снижение содержания ХС-ЛПНП может поддерживаться в течение, до или вплоть до приблизительно 30 дней, или приблизительно 60 дней, или приблизительно 90 дней, или дольше. Согласно некоторым вариантам осуществления снижение содержания ХС-ЛПНП, по сравнению с исходным содержанием ХС-ЛПНП, может составлять больше чем приблизительно 40% в 30 день и поддерживаться в течение, до или вплоть до приблизительно 60 дней, приблизительно 90 дней или дольше.

Введение средства РНКи в количестве дозы, составляющем приблизительно 200 мг, может снижать содержание ХС-ЛПНП, по сравнению с исходным содержанием ХС-ЛПНП, больше чем приблизительно на 15%, или больше чем приблизительно на 20%, или больше чем приблизительно на 25%, или больше чем приблизительно на 30% к 15 дню. Указанное снижение содержания ХС-ЛПНП может поддерживаться в течение, до или вплоть до приблизительно 30 дней, или приблизительно 60 дней, или приблизительно 90 дней, или приблизительно 120 дней, или приблизительно 150 дней, или приблизительно 180 дней, или приблизительно 210 дней, или приблизительно 240 дней, или приблизительно 270 дней, или приблизительно 300 дней, или приблизительно 330 дней, или приблизительно 360 дней, или дольше. Согласно некоторым вариантам осуществления снижение содержания ХС-ЛПНП, по сравнению с исходным содержанием ХС-ЛПНП, может составлять больше чем приблизительно 40% в 30 день и поддерживаться в течение, до или вплоть до приблизительно 60 дней, приблизительно 90 дней, или дольше. Согласно определенным вариантам осуществления снижение содержания ХС-ЛПНП, по сравнению с исходным содержанием ХС-ЛПНП, может составлять больше чем приблизительно 30% в 15 день и поддерживаться в течение, до или вплоть до приблизительно 30 дней, приблизительно 60 дней, приблизительно 90 дней, приблизительно 120 дней, приблизительно 150 дней, или дольше. Согласно некоторым вариантам осуществления снижение содержания ХС-ЛПНП, по сравнению с исходным содержанием ХС-ЛПНП, может составлять больше чем приблизительно 5% в 180 день или вплоть до 180 дня. Согласно определенным вариантам осуществления снижение содержания ХС-ЛПНП, по сравнению с исходным содержанием ХС-

приблизительно на 25%, или больше чем приблизительно на 30%, или больше чем приблизительно на 35%, или больше чем приблизительно на 40%, к 90 дню; и/или может снижать содержание Lp(a), по сравнению с исходным содержанием Lp(a), больше чем приблизительно на 5%, или больше чем приблизительно на 10%, или больше чем приблизительно на 15%, или больше чем приблизительно на 20%, к 90 дню. Согласно некоторым вариантам осуществления в 180 день, снижение содержания общего холестерина превышает приблизительно 25%, и снижение содержания Аро-В превышает приблизительно 30%.

Введение дозы средства РНКи, составляющей приблизительно 100 мг, в 1 день с последующим введением дозы средства РНКи, составляющей приблизительно 100 мг, в 90 день может снижать содержание общего холестерина, по сравнению с исходным содержанием общего холестерина, больше чем приблизительно на 5%, или больше чем приблизительно на 10%, или больше чем приблизительно на 15%, или больше чем приблизительно на 20%, к 180 дню; может снижать содержание ХС не-ЛПВП, по сравнению с исходным содержанием ХС не-ЛПВП, больше чем приблизительно на 5%, или больше чем приблизительно на 10%, или больше чем приблизительно на 15%, или больше чем приблизительно на 20%, к 180 дню; может снижать содержание Аро-В, по сравнению с исходным содержанием Аро-В, больше чем приблизительно на 5%, или больше чем приблизительно на 10%, или больше чем приблизительно на 15%, или больше чем приблизительно на 20%, или больше чем приблизительно на 25%, к 180 дню; и/или может снижать содержание Lp(a), по сравнению с исходным содержанием Lp(a), больше чем приблизительно на 5%, или больше чем приблизительно на 10%, к 180 дню.

Введение дозы средства РНКи, составляющей приблизительно 200 мг, в 1 день с последующим введением дозы средства РНКи, составляющей приблизительно 200 мг, в 90 день может снижать содержание общего холестерина, по сравнению с исходным содержанием общего холестерина, больше чем приблизительно на 5%, или больше чем приблизительно на 10%, или больше чем приблизительно на 15%, или больше чем приблизительно на 20%, или больше чем приблизительно на 25%, к 180 дню; может снижать содержание ХС не-ЛПВП, по сравнению с исходным содержанием ХС не-ЛПВП, больше чем приблизительно на 5%, или больше чем приблизительно на 10%, или больше чем приблизительно на 15%, или больше чем приблизительно на 20%, или больше чем приблизительно на 25%, или больше чем приблизительно на 30%, или более чем на 35%, к 180 дню; может снижать содержание Аро-В, по сравнению с исходным содержанием Аро-В, больше чем приблизительно на 5%, или больше чем приблизительно на 10%, или больше чем приблизительно на 15%, или больше чем приблизительно на 20%, или больше чем приблизительно на 25%, или более чем на 30%, или более чем на 35%, к 180 дню; и/или может снижать содержание Lp(a), по сравнению с исходным содержанием Lp(a), больше чем приблизительно на 5%, или больше чем приблизительно на 10%, или более чем на 15%, к 180 дню.

Введение дозы средства РНКи, составляющей приблизительно 300 мг, в 1 день с последующим введением дозы средства РНКи, составляющей приблизительно 300 мг, в 90 день может снижать содержание общего холестерина, по сравнению с исходным содержанием общего холестерина, больше чем приблизительно на 5%, или больше чем приблизительно на 10%, или больше чем приблизительно на 15%, или больше чем приблизительно на 20%, или больше чем приблизительно на 25%, или более чем на 30%, к 180 дню; может снижать содержание ХС не-ЛПВП, по сравнению с исходным содержанием ХС не-ЛПВП, больше чем приблизительно на 5%, или больше чем приблизительно на 10%, или больше чем приблизительно на 15%, или больше чем приблизительно на 20%, или больше чем приблизительно на 25%, или больше чем приблизительно на 30%, или более чем на 35%, или более чем на 40%, или более чем на 45%, к 180 дню; может снижать содержание Аро-В, по сравнению с исходным содержанием Аро-В, больше чем приблизительно на 5%, или больше чем приблизительно на 10%, или больше чем приблизительно на 15%, или больше чем приблизительно на 20%, или больше чем приблизительно на 25%, или более чем на 30%, или более чем на 35%, или более чем на 40%, к 180 дню; и/или может снижать содержание Lp(a), по сравнению с исходным содержанием Lp(a), больше чем приблизительно на 5%, или больше чем приблизительно на 10%, или более чем на 15%, или более чем на 20%, или более чем на 25%, к 180 дню.

Согласно определенным вариантам осуществления способы могут дополнительно предусматривать оценку субъекта до введения средства РНКи. Оценку можно выполнить в тот же день, но до введения средства РНКи, или ее можно выполнить за один день или за два дня, или за три дня до, или за пять дней до, или за шесть дней до, или за семь дней до, или за восемь дней до, или за девять дней до, или за десять дней до, или за 11 дней до, или за 12 дней до, или за 13 дней до, или за 14 дней до введения средства РНКи. Согласно некоторым вариантам осуществления оценку можно выполнить более чем за один день до введения средства РНКи.

Согласно некоторым вариантам осуществления оценка может предусматривать измерение одного или нескольких физиологических параметров или характеристик субъекта, включая в себя без ограничения возраст, рост, массу тела, индекс массы тела, расу, пол, подвергается ли субъект любому другому лечению (например, гиплипидемической терапии, такой как статин), диагноз сердечно-сосудистого заболевания и диагноз сахарного диабета, частоту сердечных сокращений, артериальное давление, параметры электрокардиограммы и т.д.

Согласно определенным вариантам осуществления оценка может предусматривать измерение одно-

го или нескольких биохимических параметров субъектов. Согласно некоторым вариантам осуществления измерения, проведенные перед введением средства РНКи, могут рассматриваться как "исходные" измерения. Примеры биохимических параметров, которые включают в себя липидные параметры, могут представлять собой без ограничения содержания ХС-ЛПНП, ХС-ЛПВП, PCSK9, общего холестерина, триглицеридов, ХС не-ЛПВП, ХС-ЛПОНП, Apo-A1, Apo-B, Lp(a), CRP, гликированного гемоглобина A1c, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, щелочной аминотрансферазы, креатинкиназы и общего билирубина. Согласно некоторым вариантам осуществления оценка субъекта до введения средства РНКи может обеспечивать исходное измерение биохимических параметров. Согласно определенным вариантам осуществления оценка субъекта до введения средства РНКи может определять и/или влиять на введение средства РНКи, например на количество средства РНКи, время введения средства РНКи и т.д.

Согласно определенным вариантам осуществления способы могут предусматривать оценку субъекта между одной или несколькими дозами средства РНКи. Оценка может предусматривать проведение измерений одного или нескольких биохимических параметров субъекта, включая в себя липидные параметры, между дозами, например, через 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 8 дней, 9 дней, 10 дней, 11 дней, 12 дней, 13 дней, 14 дней, 15 дней, 20 дней, 21 день, 28 дней, 30 дней, 35 дней, 40 дней, 42 дня, 45 дней, 49 дней, 50 дней, 56 дней, 60 дней, 63 дня, 70 дней, 77 дней, 80 дней, 84 дня и/или 90 дней после введения средства РНКи. Биохимические измерения могут включать в себя без ограничения содержания ХС-ЛПНП, ХС-ЛПВП, PCSK9, общего холестерина, триглицеридов, ХС не-ЛПВП, ХС-ЛПОНП, Apo-A1, аполипопротеина В, Lp(a), CRP, гликированного гемоглобина A1c, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, щелочной аминотрансферазы, креатинкиназы и общего билирубина.

Согласно некоторым вариантам осуществления оценка между одной или несколькими дозами средства РНКи может измерять физиологические параметры или характеристики субъекта, включая в себя без ограничения массу тела, индекс массы тела, частоту сердечных сокращений, артериальное давление, параметры электрокардиограммы и т.д.

Согласно некоторым вариантам осуществления результаты оценки могут определять и/или влиять на последующее введение или последующие введения средства РНКи, например на количество средства РНКи, время введения средства РНКи и т.д. Например, один или несколько результатов измерений могут увеличивать или уменьшать последующую дозу средства РНКи приблизительно на 5%, или приблизительно на 10%, или приблизительно на 20%, или приблизительно на 30%, или приблизительно на 40%, или приблизительно на 50%, или приблизительно на 60%, или приблизительно на 70%, или приблизительно на 80%, или приблизительно на 90%, или больше.

Различные биохимические параметры могут определять/влиять на дозу средства РНКи, подлежащего введению. Например, измерение содержания аланинаминотрансферазы или аспартатаминотрансферазы, которое больше чем в два раза превышает ULN, и/или общего билирубина, которое больше чем в 1,5 раза превышает ULN, может приводить к снижению дозы последующего введения средства РНКи. В качестве другого примера измерение содержания гликированного гемоглобина A1c, которое превышает 10%, может приводить к снижению дозы последующего введения средства РНКи. Измерение содержания ХС-ЛПНП, которое снижено меньше чем приблизительно на 1%, или меньше чем приблизительно на 5%, или меньше чем приблизительно на 10%, или меньше чем приблизительно на 15% от исходных измерений, может приводить к увеличению дозы последующего введения средства РНКи. Дозу можно уменьшить или увеличить, например, приблизительно на 1%, или приблизительно на 5%, или приблизительно на 10%, или приблизительно на 15%, или приблизительно на 20%, или приблизительно на 25%, или приблизительно на 30%, или приблизительно на 35%, или приблизительно на 40%, или приблизительно на 45%, или приблизительно на 50%, или больше.

Согласно определенным вариантам осуществления после оценки субъекта до введения средства РНКи, как описано выше, субъекту можно вводить гиполипидемическую терапию. Гиполипидемическая терапия может представлять собой схему лечения, при которой субъекту вводят гиполипидемическую терапию через регулярные интервалы времени. Согласно некоторым вариантам осуществления субъект может не иметь предшествующего опыта проведения гиполипидемической терапии. Согласно определенным вариантам осуществления после введения гиполипидемической схемы лечения субъект может подвергаться дополнительной оценке для проведения измерений одного или нескольких биохимических параметров субъекта, включая в себя липидные параметры, как описано выше. Затем субъекту можно вводить средство РНКи, как описано в настоящем документе.

Введение средства РНКи.

Способы согласно настоящему изобретению предусматривают введение субъектам эффективного количества, такого как профилактически эффективное количество или терапевтически эффективное количество, средства РНКи.

"Профилактически эффективное количество" может включать в себя количество средства РНКи, которое при введении субъекту, который еще не испытывает или не проявляет симптомов состояния, на который может быть предрасположен к состоянию, является достаточным для предотвращения или

улучшения состояния или одного или нескольких симптомов состояния. Улучшение состояния включает в себя замедление течения состояния или уменьшение тяжести развивающегося в дальнейшем состояния. "Профилактически эффективное количество" может варьироваться в зависимости от средства РНКи, способа введения средства, степени риска заболевания, а также истории болезни, возраста, массы тела, семейного анамнеза, набора генов, типов предшествующего или сопутствующего лечения, если таковые имеются, и других индивидуальных особенностей пациента, подлежащего лечению.

"Терапевтически эффективное количество" может включать в себя количество средства РНКи, которое при введении субъекту является достаточным для осуществления лечения состояния (например, путем уменьшения, улучшения или поддержания существующего состояния или одного или нескольких симптомов состояния). "Терапевтически эффективное количество" может варьироваться в зависимости от средства РНКи, способа введения средства, состояния и его тяжести и истории болезни, возраста, массы тела, семейного анамнеза, набора генов, стадии патологических процессов, типов предшествующих или сопутствующих способов лечения, если таковые имеются, и других индивидуальных характеристик пациента, подлежащего лечению.

"Исходный уровень" может относиться к состоянию без лечения, например до введения лечения.

Средство РНКи можно вводить субъекту в виде фиксированной дозы. "Фиксированная доза" (например, доза в мг) представляет собой дозу, которую используют для всех субъектов независимо от каких-либо специфических для субъекта факторов, таких как масса тела. Альтернативно, средство РНКи можно вводить субъекту в виде дозы, рассчитанной на массу тела (например, доза в мг/кг), которая представляет собой дозу средства РНКи, которая будет изменяться в зависимости от массы тела субъекта. Согласно вариантам осуществления, в которых субъект получает несколько доз, средство РНКи можно вводить комбинацию фиксированных доз и доз, рассчитанных на массу тела.

Согласно определенным вариантам осуществления средство РНКи вводят субъекту в виде фиксированной дозы, составляющей приблизительно 50 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 350 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 400 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 450 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 500 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 550 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 600 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 650 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 700 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 750 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 350 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 400 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 450 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 500 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 550 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 600 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 650 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 700 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 750 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 350 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 400 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 450 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 500 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 550 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 600 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 650 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 350 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 400 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 450 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 500 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 550 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 600 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 350 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 400 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 450 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 500 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 550 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 350 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 400 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 450 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 500 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 550 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 500 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 500 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 500 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 500 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 500 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 500 мг,

приблизительно 350 мг - приблизительно 500 мг, приблизительно 400 мг - приблизительно 500 мг, приблизительно 450 мг - приблизительно 500 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 450 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 450 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 450 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 450 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 450 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 450 мг, приблизительно 350 мг - приблизительно 450 мг, приблизительно 400 мг - приблизительно 450 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 400 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 400 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 400 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 400 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 400 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 400 мг, приблизительно 350 мг - приблизительно 400 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 350 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 350 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 350 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 350 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 350 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 350 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 300 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 300 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 300 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 300 мг, или приблизительно 250 мг - приблизительно 300 мг, например фиксированной дозы, составляющей приблизительно 50 мг, приблизительно 75 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 125 мг, приблизительно 150 мг, приблизительно 175 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 225 мг, приблизительно 250 мг, приблизительно 275 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 325 мг, приблизительно 350 мг, приблизительно 375 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 425 мг, приблизительно 450 мг, приблизительно 475 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 525 мг, приблизительно 550 мг, приблизительно 575 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 625 мг, приблизительно 650 мг, приблизительно 675 мг, приблизительно 700 мг, приблизительно 725 мг, приблизительно 750 мг, приблизительно 775 мг или приблизительно 800 мг. Подразумевается, что значения и диапазоны, промежуточные по отношению к приведенным выше значениям, также являются частью настоящего изобретения.

Средство РНКи можно вводить в виде нескольких доз, которые повторяют, например, через регулярные интервалы времени. Например, средство РНКи можно вводить субъекту с интервалом, составляющим приблизительно один день, приблизительно два дня, приблизительно три дня, приблизительно четыре дня, приблизительно пять дней, приблизительно шесть дней, приблизительно неделю, приблизительно две недели, приблизительно три недели, приблизительно четыре недели, приблизительно один месяц, приблизительно два месяца, приблизительно три месяца, приблизительно четыре месяца, приблизительно пять месяцев, приблизительно шесть месяцев, приблизительно семь месяцев, приблизительно восемь месяцев, приблизительно девять месяцев, приблизительно десять месяцев, приблизительно 11 месяцев, приблизительно 12 месяцев, приблизительно один год, приблизительно 13 месяцев, приблизительно 14 месяцев, приблизительно 15 месяцев, приблизительно 16 месяцев, приблизительно 17 месяцев, приблизительно 18 месяцев, приблизительно 19 месяцев, приблизительно 20 месяцев, приблизительно 21 месяц, приблизительно 22 месяца, приблизительно 23 месяца, приблизительно 24 месяца или дольше, например, при постоянном введении. Согласно определенным вариантам осуществления фиксированную дозу можно вводить субъекту один или несколько раз в год, т.е. два раза, три раза, четыре раза, пять раз, шесть раз, семь раз, восемь раз, девять раз, 10 раз, 11 раз, 12 раз, 13 раз, 14 раз, 15 раз, 16 раз, 17 раз, 18 раз, 19 раз, 20 раз, 21 раз, 22 раза, 23 раза, 24 раза или чаще. Согласно некоторым вариантам осуществления фиксированную дозу можно вводить субъекту один раз приблизительно каждые четыре недели, приблизительно каждые пять недель, приблизительно каждые шесть недель, приблизительно каждые семь недель, приблизительно каждые восемь недель, приблизительно каждые девять недель, приблизительно каждые 10 недель, приблизительно каждые 11 недель, приблизительно каждые 12 недель, приблизительно каждые 13 недель, приблизительно каждые 14 недель, приблизительно каждые 15 недель, приблизительно каждые 16 недель, приблизительно каждые 17 недель, приблизительно каждые 18 недель, приблизительно каждые 19 недель, приблизительно каждые 20 недель, приблизительно каждые 22 недели, приблизительно каждые 24 недели, приблизительно каждые 26 недель, приблизительно каждые 28 недель, приблизительно каждые 30 недель, приблизительно каждые 32 недели, приблизительно каждые 34 недели, приблизительно каждые 36 недель, приблизительно каждые 38 недель, приблизительно каждые 40 недель, приблизительно каждые 42 недели, приблизительно каждые 44 недели, приблизительно каждые 46 недель, приблизительно каждые 48 недель, приблизительно каждые 50 недель, приблизительно каждые 52 недели или дольше. Согласно определенным вариантам осуществления фиксированную дозу можно вводить субъекту один раз в день, один раз приблизительно в два дня, один раз приблизительно в три дня, один раз приблизительно в четыре дня, один раз приблизительно в пять дней, один раз приблизительно в шесть дней, один раз приблизительно в семь дней, один раз приблизительно в восемь дней, один раз приблизительно в девять дней, один раз приблизительно в 10 дней, один раз приблизительно в 11 дней, один раз приблизительно в 12 дней, один раз приблизительно в 13 дней, один раз приблизительно в 14 дней, один раз приблизительно в 15 дней, один раз приблизительно в 16 дней, один раз приблизительно в 17 дней, один раз приблизительно в 18 дней, один раз приблизительно в 19 дней, один раз приблизительно в 20 дней, один раз приблизительно в 30 дней, один раз приблизительно в 40 дней, один раз приблизительно в 50 дней, один раз приблизительно в 60 дней, один раз приблизительно в 70 дней, один

раз приблизительно в 80 дней, один раз приблизительно в 90 дней, один раз приблизительно в 100 дней, один раз приблизительно в 110 дней, один раз приблизительно в 120 дней, один раз приблизительно в 130 дней, один раз приблизительно в 140 дней, один раз приблизительно в 150 дней, один раз приблизительно в 160 дней, один раз приблизительно в 170 дней, один раз приблизительно в 180 дней, один раз приблизительно в 190 дней, один раз приблизительно в 200 дней, один раз приблизительно в 210 дней, один раз приблизительно в 220 дней, один раз приблизительно в 230 дней, один раз приблизительно в 240 дней, один раз приблизительно в 250 дней, один раз приблизительно в 260 дней, один раз приблизительно в 270 дней, один раз приблизительно в 280 дней, один раз приблизительно в 290 дней, один раз приблизительно в 300 дней, один раз приблизительно в 310 дней, один раз приблизительно в 320 дней, один раз приблизительно в 330 дней, один раз приблизительно в 340 дней, один раз приблизительно в 350 дней, один раз приблизительно в 360 дней, один раз приблизительно в 365 дней или дольше.

Согласно определенным вариантам осуществления средство РНКи можно вводить по схеме введения, которая включает в себя "насыщающую фазу" близких по времени введений, за которой может следовать "поддерживающая фаза", во время которой средство РНКи можно вводить с более длительными интервалами. Например, после введения еженедельно или раз в две недели в течение одного месяца введение можно повторять один раз в месяц в течение шести месяцев или года или дольше, например, при постоянном введении.

Согласно некоторым вариантам осуществления насыщающая фаза может предусматривать введение средства РНКи в течение первой недели, первых двух недель, первых трех недель, первого месяца и т.д.

Согласно определенным вариантам осуществления одну или несколько доз можно вводить в течение насыщающей фазы. Насыщающая фаза может предусматривать первое введение средства РНКи в 1 день и затем одно или несколько введений средства РНКи через приблизительно один день, приблизительно два дня, приблизительно три дня, приблизительно четыре дня, приблизительно пять дней, приблизительно шесть дней, приблизительно семь дней, приблизительно восемь дней, приблизительно девять дней, приблизительно десять дней, приблизительно 11 дней, приблизительно 12 дней, приблизительно 13 дней, приблизительно 14 дней, приблизительно 15 дней, приблизительно 16 дней, приблизительно 17 дней, приблизительно 18 дней, приблизительно 19 дней, приблизительно 20 дней, приблизительно 30 дней, приблизительно 40 дней, приблизительно 50 дней, приблизительно 60 дней, приблизительно 70 дней, приблизительно 80 дней, приблизительно 90 дней, приблизительно 100 дней, приблизительно 110 дней, приблизительно 120 дней, приблизительно 130 дней, приблизительно 140 дней, приблизительно 150 дней, приблизительно 160 дней, приблизительно 170 дней, приблизительно 180 дней, приблизительно 190 дней, приблизительно 200 дней, приблизительно 210 дней, приблизительно 220 дней, приблизительно 230 дней, приблизительно 240 дней, приблизительно 250 дней, приблизительно 260 дней, приблизительно 270 дней, приблизительно 280 дней, приблизительно 290 дней, приблизительно 300 дней, приблизительно 310 дней, приблизительно 320 дней, приблизительно 330 дней, приблизительно 340 дней, приблизительно 350 дней, приблизительно 360 дней, приблизительно 365 дней или дольше.

Согласно некоторым вариантам осуществления насыщающая фаза может предусматривать введение средства РНКи в 1 день и затем второе введение средства РНКи приблизительно через одну неделю, приблизительно две недели, приблизительно три недели, приблизительно четыре недели, приблизительно пять недель, приблизительно шесть недель, приблизительно семь недель, приблизительно восемь недель, приблизительно девять недель, приблизительно десять недель, приблизительно 13 недель, приблизительно 15 недель, приблизительно 20 недель, приблизительно 25 недель, приблизительно 26 недель, приблизительно 30 недель, приблизительно 35 недель, приблизительно 40 недель, приблизительно 45 недель, приблизительно 50 недель, приблизительно 52 недели или дольше. Согласно определенным вариантам осуществления насыщающая фаза может предусматривать введение средства РНКи в 1 день и затем второе введение средства РНКи приблизительно через один месяц, приблизительно два месяца, приблизительно три месяца, приблизительно четыре месяца, приблизительно пять месяцев, приблизительно шесть месяцев, приблизительно семь месяцев, приблизительно восемь месяцев, приблизительно девять месяцев, приблизительно десять месяцев, приблизительно 11 месяцев, приблизительно 12 месяцев или дольше. Согласно некоторым вариантам осуществления насыщающая фаза может предусматривать дополнительные дозы средства РНКи (т.е. больше чем две дозы), и интервал между каждым введением может варьироваться.

Согласно определенным вариантам осуществления средство РНК можно вводить в 1 день и снова приблизительно в 90 день.

Согласно определенным вариантам осуществления средство РНКи можно вводить субъекту в течение насыщающей фазы в виде фиксированной дозы, составляющей приблизительно 50 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 350 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 400 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 450 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 500 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 550 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 600 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 650 мг - приблизительно 800 мг, приблизи-

350 дней, один раз приблизительно в 360 дней, один раз приблизительно в 365 дней или дольше.

Согласно определенным вариантам осуществления поддерживающая фаза может предусматривать введение дозы средства РНКи субъекту приблизительно каждые три месяца, приблизительно каждые четыре месяца, приблизительно каждые шесть месяцев, приблизительно каждые девять месяцев или приблизительно каждый год.

Поддерживающая доза или дозы могут являться такими же или отличными от насыщающей дозы или доз. Например, поддерживающая доза может составлять приблизительно 25 мг - приблизительно 800 мг, водимых субъекту, например, приблизительно 25 мг, приблизительно 50 мг, приблизительно 75 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 125 мг, приблизительно 150 мг, приблизительно 175 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 225 мг, приблизительно 250 мг, приблизительно 275 мг, приблизительно 300 мг, 325 мг, приблизительно 350 мг, приблизительно 375 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 425 мг, приблизительно 450 мг, приблизительно 475 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 525 мг, приблизительно 550 мг, приблизительно 575 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 625 мг, приблизительно 650 мг, приблизительно 675 мг, приблизительно 700 мг, приблизительно 725 мг, приблизительно 750 мг, приблизительно 775 мг или приблизительно 800 мг. Подразумевается, что значения и диапазоны, промежуточные по отношению к приведенным выше значениям, также являются частью настоящего изобретения.

Согласно определенным вариантам осуществления поддерживающая фаза может предусматривать введение дозы средства РНКи, составляющей 300 мг, субъекту каждые три месяца, каждые четыре месяца, каждые шесть месяцев, каждые девять месяцев или каждый год.

Согласно определенному варианту осуществления средство РНКи можно вводить по схеме введения, которая предусматривает (1) насыщающую фазу, во время которой средство РНКи вводят в виде дозы, составляющей 300 мг, в 1 день и приблизительно в 90 день; и (2) поддерживающую фазу, в которой средство РНКи вводят в виде 300 мг приблизительно каждые шесть месяцев после введения приблизительно в 90 день.

Средство РНКи можно вводить субъекту с использованием любого способа введения, известного в настоящей области техники, включая в себя без ограничения подкожный, внутривенный, внутримышечный, интраокулярный, внутрибронхиальный, внутриплевральный, интраперитонеальный, внутриартериальный, лимфатический, цереброспинальный пути и любые их комбинации. Согласно предпочтительным вариантам осуществления средство вводят подкожно.

Согласно некоторым вариантам осуществления введение осуществляют посредством инъекции депо - лекарственного средства. Инъекции депо-лекарственного средства могут включать в себя подкожные инъекции или внутримышечные инъекции. Согласно определенным вариантам осуществления инъекция депо - лекарственного средства представляет собой подкожную инъекцию.

Согласно некоторым вариантам осуществления введение осуществляют с помощью насоса. Насос может представлять собой внешний насос или хирургически имплантированный насос. Согласно определенным вариантам осуществления насос представляет собой подкожно имплантированный осмотический насос. Согласно другим вариантам осуществления насос представляет собой инфузионный насос. Инфузионный насос можно использовать для внутривенных, подкожных, артериальных или эпидуральных инфузий. Согласно определенным вариантам осуществления инфузионный насос представляет собой подкожный инфузионный насос. Согласно другим вариантам осуществления насос представляет собой хирургически имплантированный насос, который доставляет средство РНКи в печень.

Другие способы введения включают в себя эпидуральный, интрацеребральный, интрацеребровентрикулярный, интраназальный, внутриартериальный, внутрисердечный способы, внутрикостную инфузию, интратекальный и интравитреальный, легочный, пероральный, местный, интратрахеальный, эпидермальный или трансдермальный способы. Способ введения можно выбрать в зависимости от того, желательна ли местная или системная терапия, и в зависимости от области, подлежащей лечению. Путь и место введения можно выбрать для усиления нацеленного воздействия.

Средство РНКи можно вводить с помощью внутривенной инфузии в течение определенного периода времени, например в течение периода времени, составляющего приблизительно одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55 или 60 мин или дольше. Введение можно повторять, например, на регулярной основе, например, раз в неделю, раз в две недели (т.е. каждые две недели) в течение одного месяца, двух месяцев, трех месяцев, четырех месяцев или дольше. После начальной схемы лечения лечение можно вводить реже. Например, после введения раз в неделю или раз в две недели в течение трех месяцев введение можно повторять один раз в месяц в течение шести месяцев или года или дольше.

Средство РНКи можно вводить в комбинации с одним или несколькими другими профилактическими или терапевтическими средствами. Средство РНКи может находиться в том же составе, что и одно или несколько других профилактических или терапевтических средств, или средство РНКи может находиться в другом составе, чем одно или несколько других профилактических или терапевтических средств. Средство РНКи и одно или несколько других профилактических или терапевтических средств можно вводить одновременно или в пределах короткого промежутка времени между ними, например, в

пределах приблизительно 1 мин, или приблизительно 5 мин, или приблизительно 15 мин, или приблизительно 30 мин, или приблизительно 60 мин, или приблизительно 2 ч, или приблизительно 3 ч, или приблизительно 4 ч, или приблизительно 6 ч, или приблизительно 9 ч, или приблизительно 12 ч, или приблизительно 15 ч, или приблизительно 18 ч, или приблизительно 24 ч.

Одно или несколько других профилактических или терапевтических средств включают в себя те, которые, как известно, лечат липидные нарушения, такие как гиперхолестеринемия, атеросклероз или дислипидемия. Например, одно или несколько других профилактических или терапевтических средств могут представлять собой ингибитор HMG-КоА-редуктазы, фибрат, секвестрант желчных кислот, ниацин, антитромбоцитарное средство, ингибитор ангиотензинпревращающего фермента, антагонист рецептора ангиотензина II, ингибитор ацил-КоА-холестеринацетилтрансферазы (ACAT), ингибитор абсорбции холестерина, ингибитор белка-переносчика сложных эфиров холестерина (СЕТР), ингибитор микросомального белка-переносчика триглицеридов (МТТР), модулятор холестерина, модулятор желчных кислот, агонист рецепторов, активируемых пролифератором пероксисом (PPAR), генная терапия, композиционный протектор сосудов (например, AGI-1067 от Atherogenics), ингибитор гликопротеина IIb/IIIa, аспирина или подобное аспирину соединение, ингибитор IBAT, ингибитор скваленсинтазы или ингибитор моноцитарного хемоаттрактантного белка (MCP)-I. В качестве дополнительного примера одно или несколько других профилактических или терапевтических средств могут представлять собой антитело к PCSK9, такое как алирокумаб (Praluent), эволокумаб (Repatha), бокоцизумаб, лоделцизумаб, ралпанцизумаб, RG7652, LY3015014, LPD1462, AX1, ALD306 или Ig1-PA4.

Субъект, которому вводят средство РНКи.

Субъект, которому вводят средство РНКи, может представлять собой человека или не являющегося человеком животное, согласно некоторым вариантам осуществления позвоночное, и, согласно конкретным вариантам осуществления млекопитающее. Согласно предпочтительным вариантам осуществления субъект представляет собой человека. Согласно определенным вариантам осуществления субъект является взрослым. Согласно некоторым вариантам осуществления субъект представляет собой пациента.

Субъект может характеризоваться исходным содержанием ХС-ЛПНП, составляющим приблизительно 70 мг/дл или больше. Согласно определенным вариантам осуществления исходное содержание ХС-ЛПНП составляет приблизительно 80 мг/дл или больше, или приблизительно 90 мг/дл или больше, или приблизительно 100 мг/дл или больше, или приблизительно 110 мг/дл или больше, или приблизительно 120 мг/дл или больше, или приблизительно 130 мг/дл или больше, или приблизительно 140 мг/дл или больше, или приблизительно 150 мг/дл или больше, или приблизительно 160 мг/дл или больше, или приблизительно 170 мг/дл или больше, или приблизительно 180 мг/дл или больше, или приблизительно 190 мг/дл или больше, или приблизительно 200 мг/дл или больше, или приблизительно 210 мг/дл или больше, или приблизительно 220 мг/дл или больше, или приблизительно 230 мг/дл или больше, или приблизительно 240 мг/дл или больше, или приблизительно 250 мг/дл или больше, или приблизительно 260 мг/дл или больше, или приблизительно 270 мг/дл или больше, или приблизительно 280 мг/дл или больше, или приблизительно 290 мг/дл или больше, или приблизительно 300 мг/дл или больше.

Согласно некоторым вариантам осуществления субъект нуждается в снижении содержания ХС-ЛПНП. Субъекты, которые могут нуждаться в снижении содержания ХС-ЛПНП, могут характеризоваться содержанием ХС-ЛПНП, составляющим приблизительно 50 мг/дл или больше, или приблизительно 60 мг/дл или больше, или приблизительно 70 мг/дл или больше, или приблизительно 80 мг/дл или больше, или приблизительно 90 мг/дл или больше, или приблизительно 100 мг/дл или больше, или приблизительно 110 мг/дл или больше, или приблизительно 120 мг/дл или больше, или приблизительно 130 мг/дл или больше, или приблизительно 140 мг/дл или больше, или приблизительно 150 мг/дл или больше, или приблизительно 160 мг/дл или больше, или приблизительно 170 мг/дл или больше, или приблизительно 180 мг/дл или больше, или приблизительно 190 мг/дл или больше, или приблизительно 200 мг/дл или больше, или приблизительно 210 мг/дл или больше, или приблизительно 220 мг/дл или больше, или приблизительно 230 мг/дл или больше, или приблизительно 240 мг/дл или больше, или приблизительно 250 мг/дл или больше, или приблизительно 260 мг/дл или больше, или приблизительно 270 мг/дл или больше, или приблизительно 280 мг/дл или больше, или приблизительно 290 мг/дл или больше, или приблизительно 300 мг/дл или больше.

Согласно некоторым вариантам осуществления у субъекта отсутствует активное заболевание печени. Активное заболевание печени можно определить с помощью измерения одного или нескольких биохимических параметров из содержания аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы и общего билирубина. Биохимические параметры можно измерять на исходном уровне. Согласно определенным вариантам осуществления субъект может характеризоваться содержанием аланинаминотрансферазы, не больше чем в два раза (2×) превышающим ULN. Согласно некоторым вариантам осуществления субъект может характеризоваться содержанием аланинаминотрансферазы, приблизительно в 1,5 раза превышающим ULN, или приблизительно таким же, как и ULN, или меньше чем ULN.

Согласно некоторым вариантам осуществления субъект может характеризоваться содержанием аспаратаминотрансферазы, не больше чем в два раза (2×) превышающим ULN. Согласно определенным

вариантам осуществления субъект может характеризоваться содержанием аспаратаминотрансферазы, приблизительно в 1,5 раза превышающим ULN, или приблизительно таким же, как и ULN, или меньше чем ULN.

Согласно некоторым вариантам осуществления субъект может характеризоваться содержанием общего билирубина, не больше чем в 1,5 раза превышающим ULN. Согласно определенным вариантам осуществления субъект может характеризоваться содержанием общего билирубина, являющимся приблизительно таким же, как и ULN, или меньше чем ULN.

Альтернативно, субъект может характеризоваться наличием активного заболевания печени. Согласно определенным вариантам осуществления субъект может характеризоваться содержанием аланинаминотрансферазы, больше чем в два раза (2×) превышающим ULN, например приблизительно в 2,5 раза больше ULN, или приблизительно в 3 раза больше ULN, или приблизительно в 3,5 раза больше ULN, или приблизительно в 4 раза больше ULN, или больше. Согласно некоторым вариантам осуществления субъект может характеризоваться содержанием аспаратаминотрансферазы, больше чем в два раза (2×) превышающим ULN, например приблизительно в 2,5 раза больше ULN, или приблизительно в 3 раза больше ULN, или приблизительно в 3,5 раза больше ULN, или приблизительно в 4 раза больше ULN, или больше. Согласно определенным вариантам осуществления субъект может характеризоваться содержанием общего билирубина, больше чем в 1,5 раза превышающим ULN, например приблизительно в 2 раза больше ULN, или приблизительно в 2,5 раза больше ULN, или приблизительно в 3 раза больше ULN, или приблизительно в 3,5 раза больше ULN, или приблизительно в 4 раза больше ULN, или больше.

ULN аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы и общего билирубина будут понятными среднему специалисту в настоящей области техники.

Согласно некоторым вариантам осуществления субъект может проходить фоновую гиполипидемическую терапию. Субъект может продолжать получать фоновую гиполипидемическую терапию в то время, когда ему вводят средство РНКи, или субъект может прекратить фоновую гиполипидемическую терапию. Согласно определенным вариантам осуществления фоновая гиполипидемическая терапия может представлять собой статин, примеры которых включают в себя без ограничения аторвастатин, правастатин, симвастатин, ловастатин, флувастатин, церивастатин, розувастатин и питивастатин. Субъект может проходить максимально переносимую терапию статинами; максимальные дозировки для статинов известны в настоящей области техники.

Согласно некоторым вариантам осуществления субъект может проходить другой тип гиполипидемической терапии, такой как эзетимиб, аферез ЛПНП, секвестранты желчных кислот, никотиновая кислота и фибраты.

Согласно другим вариантам осуществления субъект не проходит фоновую гиполипидемическую терапию.

Согласно определенным вариантам осуществления субъект может соблюдать диету, например диету, предназначенную для улучшения содержания липидов. Такие диеты известны в настоящей области техники. Например, диета, предназначенная для улучшения содержания липидов, может включать в себя следующее: употреблять нежирные части мяса; удалять жир из мяса; не употреблять жареную пищу или жирные соусы; не употреблять яичные желтки; использовать молочные продукты с низким содержанием жира, такие как обезжиренное молоко или 1% молоко, замороженный йогурт с низким содержанием жира; мороженое с низким содержанием жира и сыры с низким содержанием жира; и есть продукты, которые являются источниками клетчатки, такие как фрукты и овощи.

Субъект может характеризоваться содержанием триглицеридов, не превышающим приблизительно 400 мг/дл. Например, субъект может характеризоваться исходным содержанием триглицеридов, составляющим приблизительно 380 мг/дл, или приблизительно 360 мг/дл, или приблизительно 340 мг/дл, или приблизительно 320 мг/дл, или приблизительно 300 мг/дл, или приблизительно 280 мг/дл, или приблизительно 260 мг/дл, или приблизительно 240 мг/дл, или приблизительно 220 мг/дл, или приблизительно 200 мг/дл, или приблизительно 180 мг/дл, или приблизительно 160 мг/дл, или приблизительно 140 мг/дл, или приблизительно 120 мг/дл, или приблизительно 100 мг/дл, или приблизительно 80 мг/дл, или приблизительно 60 мг/дл.

Согласно другим вариантам осуществления субъект может характеризоваться содержанием триглицеридов, превышающим приблизительно 400 мг/дл. Например, субъект может характеризоваться исходным содержанием триглицеридов, составляющим приблизительно 420 мг/дл, или приблизительно 440 мг/дл, или приблизительно 460 мг/дл, или приблизительно 480 мг/дл, или приблизительно 500 мг/дл, или приблизительно 520 мг/дл, или приблизительно 540 мг/дл, или приблизительно 560 мг/дл, или приблизительно 580 мг/дл, или приблизительно 600 мг/дл.

Согласно некоторым вариантам осуществления содержание триглицеридов измеряют на исходном уровне.

Субъект может характеризоваться расчетной скоростью клубочковой фильтрации (eGFR), составляющей по меньшей мере приблизительно 30 мл/мин. Например, eGFR может составлять приблизительно 30 мл/мин, или приблизительно 35 мл/мин, или приблизительно 40 мл/мин, или приблизительно 45

мл/мин, или приблизительно 50 мл/мин, или больше.

Согласно некоторым вариантам осуществления субъект характеризуется наличием гиперлипидемии, такой как гиперхолестеринемия. Согласно определенным вариантам осуществления субъект характеризуется наличием гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии. Согласно другому варианту осуществления субъект характеризуется наличием гомозиготной семейной гиперхолестеринемии.

Альтернативно, субъект может характеризоваться eGFR, составляющей меньше чем приблизительно 30 мл/мин, такой как eGFR, составляющей приблизительно 25 мл/мин, или приблизительно 20 мл/мин, или приблизительно 15 мл/мин.

Согласно некоторым вариантам осуществления eGFR измеряют на исходном уровне.

У субъекта может отсутствовать сахарный диабет 2 типа, который является плохо компенсированным, такой как сахарный диабет 2 типа, который не лечат или не лечат должным образом, или вообще не лечат. Плохо компенсированный сахарный диабет можно идентифицировать по содержанию гликированного гемоглобина A1c, составляющему по меньшей мере около 10%. Следовательно, субъект может характеризоваться содержанием гликированного гемоглобина A1c, составляющим менее чем приблизительно 10%, таким как приблизительно 9%, или приблизительно 8%, или приблизительно 7%, или приблизительно 6%, или приблизительно 5%, или меньше.

Согласно другим вариантам осуществления субъект может характеризоваться наличием сахарного диабета 2 типа, который является плохо компенсированным, о чем может свидетельствовать содержание гликированного гемоглобина A1c, составляющее по меньшей мере приблизительно 10%, например, приблизительно 15%, или приблизительно 20%, или приблизительно 25%, или приблизительно 30% или больше.

Согласно некоторым вариантам осуществления содержание гликированного гемоглобина A1c измеряют на исходном уровне.

У субъекта может не быть сердечной недостаточности, которая характеризуется Нью-Йоркской кардиологической ассоциацией (New York Heart Association, NYHA) как класс II, III или IV. Альтернативно, субъект может страдать от сердечной недостаточности, которая характеризуется Нью-Йоркской кардиологической ассоциацией (NYHA) как класс II, III или IV.

Субъект может характеризоваться фракцией выброса желудочков, составляющей 30% или больше, например, приблизительно 35% или приблизительно 40%, или приблизительно 45%, или приблизительно 50%, или больше. Согласно другим вариантам осуществления субъект может характеризоваться фракцией выброса желудочков, составляющей меньше чем 30%, например, фракция выброса желудочков, составляющая приблизительно 25%, или приблизительно 20%, или приблизительно 15%, или меньше. Фракцию выброса желудочков можно измерять в качестве исходного измерения, или это может быть последняя известная фракция выброса желудочков, которая была измерена ранее.

Субъект может не испытать серьезное нежелательное явление со стороны сердца в пределах шести месяцев после введения средства РНКи. Серьезные нежелательные явления со стороны сердца включают в себя без ограничения смерть, нефатальный инфаркт миокарда, тяжелую рецидивирующую ишемию, инсульт, симптоматическую эмболию сосудов легких и кровотечения. Согласно некоторым вариантам осуществления серьезное нежелательное явление со стороны сердца не происходило в пределах приблизительно семи месяцев, приблизительно восьми месяцев, приблизительно девяти месяцев, приблизительно десяти месяцев, приблизительно 11 месяцев, приблизительно 12 месяцев, приблизительно 18 месяцев, приблизительно 24 месяца, приблизительно 30 месяцев, приблизительно 36 месяцев или больше после введения средства РНКи, включая в себя ни одного случая серьезного явления со стороны сердца. Согласно альтернативным вариантам осуществления субъект может испытать серьезное явление со стороны сердца в пределах шести месяцев после введения средства РНКи, включая в себя в пределах приблизительно 5 месяцев, или приблизительно 4 месяцев, или приблизительно 3 месяцев, или приблизительно 2 месяцев, или приблизительно 1 месяца, или приблизительно 4 недель, или приблизительно 3 недель, или приблизительно 2 недель, или приблизительно 1 недели, или раньше.

Субъект может не характеризоваться наличием тяжелой гипертензией. Согласно некоторым вариантам осуществления тяжелую гипертензию можно идентифицировать по систолическому давлению крови, превышающему приблизительно 180 мм рт. ст., такому как систолическое давление крови, составляющее приблизительно 190 мм рт. ст., или приблизительно 200 мм рт. ст., или приблизительно 220 мм рт. ст., или приблизительно 240 мм рт. ст., или приблизительно 260 мм рт. ст., или приблизительно 280 мм рт. ст., или приблизительно 300 мм рт. ст., или выше; и/или диастолическому давлению крови, превышающему приблизительно 110 мм рт. ст., такому как диастолическое давление крови, составляющее приблизительно 120 мм рт. ст., или приблизительно 140 мм рт. ст., или приблизительно 160 мм рт. ст., или приблизительно 180 мм рт. ст., или приблизительно 200 мм рт. ст., или приблизительно 220 мм рт. ст., или приблизительно 240 мм рт. ст., или выше. Согласно определенным вариантам осуществления субъект может не характеризоваться наличием неконтролируемой тяжелой гипертензии. Неконтролируемую тяжелую гипертензию можно идентифицировать по систолическому давлению крови, превышающему приблизительно 180 мм рт. ст. и/или диастолическому давлению крови, превышающему приблизительно 110 мм рт. ст., несмотря на антигипертензивную терапию. Альтернативно, субъект может

характеризоваться наличием тяжелой гипертензии и/или неконтролируемой тяжелой гипертензии.

Согласно некоторым вариантам осуществления давление крови измеряют на исходном уровне.

Субъект может не характеризоваться наличием геморрагического инсульта в анамнезе. Альтернативно, субъект может испытать геморрагический инсульт.

Субъект может не испытать аритмию сердца в пределах трех месяцев после введения средства РНКи, включая в себя в пределах приблизительно 4 месяцев, или приблизительно 5 месяцев, или приблизительно 6 месяцев, или приблизительно 7 месяцев, или приблизительно 8 месяцев, или приблизительно 9 месяцев, или приблизительно 10 месяцев, или приблизительно 11 месяцев, или приблизительно 12 месяцев, или дольше. Согласно другим вариантам осуществления субъект мог испытать аритмию сердца в пределах трех месяцев после введения средства РНКи, но аритмия сердца контролировалась, например, с помощью лекарственных средств или посредством абляции. Альтернативно, субъект мог испытать аритмию сердца в пределах трех месяцев, которая не контролировалась, например, с помощью лекарственных средств или посредством абляции.

Согласно определенным вариантам осуществления субъект может характеризоваться одним или несколькими из следующего: наличие в анамнезе инфаркта миокарда, стабильной или нестабильной стенокардии, коронарной или другой артериальной реваскуляризации, инсульта, транзиторной ишемической атаки или заболевания периферических артерий атеросклеротического происхождения; субъект является мужчиной; наличие в семейном анамнезе сердечно-сосудистых заболеваний, ASCVD или эквивалента риска ASCVD; наличие привычки курить; субъект является физически неактивным; характеризуется высоким кровяным давлением; характеризуется высоким содержанием холестерина в крови; наличие сахарного диабета и преддиабета; наличие избыточной массы тела или ожирения; наличие в анамнезе преэклампсии во время беременности; неконтролируемый стресс и/или гнев; субъект находится в постменопаузе; наличие нездоровой диеты, например диеты с высоким содержанием соли, насыщенных жиров, трансжиров, холестерина и/или рафинированных Сахаров; возраст 55 лет или старше; наличие апноэ во сне; наличие анемии; или их комбинация.

Согласно некоторым вариантам осуществления субъект может характеризоваться наличием когнитивного нарушения, такого как болезнь Альцгеймера, деменция, потеря памяти и т.д. Согласно другим вариантам осуществления субъект не характеризуется наличием какого-либо когнитивного нарушения.

Средство РНКи.

Средство РНКи представляет собой двухцепочечную рибонуклеиновую кислоту, содержащую смысловую цепь и антисмысловую цепь, которая образует двухцепочечную область. Антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 1, т.е. 5'-ACAAAAGCAAAACAGGUCUAGAA-3'. Смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 2, т.е. 5'-CUAGACCUGUTUUGCUUUUGU-3'.

Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения по меньшей мере один из нуклеотидов на антисмысловой цепи, по меньшей мере один из нуклеотидов на смысловой цепи, или по меньшей мере один из нуклеотидов как на антисмысловой цепи, так и смысловой цепи, представляет собой модифицированный нуклеотид. Согласно некоторым вариантам осуществления по существу все нуклеотиды антисмысловой цепи, по существу все нуклеотиды смысловой цепи, или по существу все нуклеотиды как антисмысловой цепи, так и смысловой цепи представляют собой модифицированные нуклеотиды. Согласно определенным вариантам осуществления все нуклеотиды антисмысловой цепи, все нуклеотиды смысловой цепи или все нуклеотиды как антисмысловой цепи, так и смысловой цепи представляют собой модифицированные нуклеотиды.

Модификации нуклеотидов можно осуществить с использованием техник и способов, известных в настоящей области техники. Модификации могут включать в себя модификации, описанные в заявке согласно РСТ № РСТ/US2016/048666, поданной 25 августа 2016 г., и в заявке на выдачу патента США с серийным номером 14/650128, поданной 5 июня 2015 г., которые включены в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно некоторым вариантам осуществления один или несколько нуклеотидов антисмысловой цепи или смысловой цепи могут являться 2'-О-метил (2'-ОМе) или 2'-фтор (2'-F) модифицированными. Согласно определенным вариантам осуществления один или несколько нуклеотидов антисмысловой цепи или смысловой цепи могут являться соединенными посредством 3'-5' фосфодиэфирных связей.

Согласно некоторым вариантам осуществления двухцепочечная рибонуклеиновая кислота содержит лиганд. Согласно определенным вариантам осуществления лиганд конъюгирован с 3' концом смысловой цепи двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты. Примеры лигандов описаны в заявке согласно РСТ № РСТ/US2016/048666, поданной 25 августа 2016 г., и в заявке на выдачу патента США с серийным номером 14/650128, поданной 5 июня 2015 г., которые включены в настоящий документ посредством ссылки. Согласно определенным вариантам осуществления лиганд представляет собой производное N-ацетилгалактозамин (GalNAc).

Согласно определенным вариантам осуществления средство РНКи представляет собой двухцепочечную рибонуклеиновую кислоту, содержащую антисмысловую цепь с нуклеотидной последовательностью 5'-asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa-3' (SEQ ID NO: 3) и смысловую цепь с нуклеотидной

последовательностью 5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuugu-3' (SEQ ID NO: 4), в которых а, g, с и и представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) А, G, С или U; Af, Gf, Cf или Uf представляют собой 2'-фтор А, G, С или U; dT представляет собой 2'-дезокситимидин; и s представляет собой тиофосфатную связь. Двухцепочечная рибонуклеиновая кислота содержит ковалентно прикрепленный лиганд трехантенный GalNAc.

Согласно некоторым вариантам осуществления средство РНКи является таким, как показано на фиг. 1.

Средство РНКи может находиться в "свободной" форме, или в виде "свободной РНК". "Свободный" относится к отсутствию фармацевтической композиции. Например, свободное средство РНКи может находиться в подходящем буферном растворе, который может содержать, в качестве примера, ацетат, цитрат, проламин, карбонат или фосфат или любую их комбинацию. Согласно некоторым вариантам осуществления буферный раствор представляет собой забуференный фосфатом физиологический раствор (PBS). РН и осмолярность буферного раствора, содержащего средство РНКи, можно регулировать таким образом, чтобы он подходил для введения субъекту. Согласно определенным вариантам осуществления средство РНКи может находиться в воде для инъекций

Альтернативно, средство РНКи можно составить в виде фармацевтической композиции, которая содержит средство РНКи и один или несколько фармацевтически приемлемых носителей. Фармацевтические композиции можно составить на основе способа доставки. Например, композиции можно составить для системного введения посредством парентеральной доставки, например путем внутривенной, внутриартериальной, подкожной, интраперитонеальной или внутримышечной инъекции или инфузии; или композицию можно ввести в состав для прямой доставки в паренхиму головного мозга, например путем инфузии в головной мозг, такой как непрерывная инфузия с помощью насоса; или композицию можно ввести в состав. Альтернативно, композиции можно ввести в состав для перорального; местного (например, с помощью трансдермального пластыря); легочного, например, путем ингаляции или инсуффляции порошков или аэрозолей, в том числе посредством распылителя; интратрахеального; интраназального; эпидермального или трансдермального введения.

Композиции и составы для парентерального, интрапаренхиматозного (в головной мозг), интракального, внутрижелудочкового или внутрипеченочного введения могут включать в себя без ограничения стерильные водные растворы, которые также могут содержать буферы, разбавители и другие подходящие добавки, такие как усилители проникновения, соединения -носители и другие фармацевтически приемлемые носители или вспомогательные вещества. Композиции и составы для перорального введения могут включать в себя без ограничения порошки или гранулы, микрочастицы, наночастицы, суспензии или растворы в воде или неводной среде, капсулы, гелевые капсулы, саше, таблетки или минитаблетки. Также можно использовать загустители, ароматизаторы, разбавители, эмульгаторы, диспергирующие средства или связующие вещества. Фармацевтические композиции и составы для местного введения могут включать в себя без ограничения трансдермальные пластыри, мази, лосьоны, кремы, гели, капли, суппозитории, спреи, жидкости и порошки. Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению могут также включать в себя без ограничения растворы, эмульсии и липосомосодержащие составы. Композиции можно составить в различные формы, включая в себя без ограничения таблетки, капсулы, гелевые капсулы, жидкие сиропы, мягкие гели, суппозитории и клизмы.

Примеры фармацевтически приемлемых носителей и конкретных композиций описаны в заявке согласно РСТ № РСТ/US2016/048666, поданной 25 августа 2016 г., и в заявке на выдачу патента США с серийным номером 14/650128, поданной 5 июня 2015 г., которые включены в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно определенным вариантам осуществления средство РНКи можно составить в подходящей концентрации так, чтобы введение обеспечивало фиксированную дозу, составляющую приблизительно 50 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 350 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 400 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 450 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 500 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 550 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 600 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 650 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 700 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 750 мг - приблизительно 800 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 350 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 400 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 450 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 500 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 550 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 600 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 650 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 700 мг, приблизительно 700 мг - приблизительно 750 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 350 мг - приблизительно

но 700 мг, приблизительно 400 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 450 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 500 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 550 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 600 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 650 мг - приблизительно 700 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 350 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 400 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 450 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 500 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 550 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 600 мг - приблизительно 650 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 350 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 400 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 450 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 500 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 550 мг - приблизительно 600 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 350 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 400 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 450 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 500 мг - приблизительно 550 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 500 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 500 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 500 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 500 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 500 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 500 мг, приблизительно 350 мг - приблизительно 500 мг, приблизительно 400 мг - приблизительно 500 мг, приблизительно 450 мг - приблизительно 500 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 450 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 450 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 450 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 450 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 450 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 450 мг, приблизительно 350 мг - приблизительно 450 мг, приблизительно 400 мг - приблизительно 450 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 400 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 400 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 400 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 400 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 400 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 400 мг, приблизительно 350 мг - приблизительно 400 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 350 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 350 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 350 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 350 мг, приблизительно 250 мг - приблизительно 350 мг, приблизительно 300 мг - приблизительно 350 мг, приблизительно 350 мг, приблизительно 50 мг - приблизительно 300 мг, приблизительно 100 мг - приблизительно 300 мг, приблизительно 150 мг - приблизительно 300 мг, приблизительно 200 мг - приблизительно 300 мг, или приблизительно 250 мг - приблизительно 300 мг, например фиксированную дозу, составляющую приблизительно 50 мг, приблизительно 75 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 125 мг, приблизительно 150 мг, приблизительно 175 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 225 мг, приблизительно 250 мг, приблизительно 275 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 325 мг, приблизительно 350 мг, приблизительно 375 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 425 мг, приблизительно 450 мг, приблизительно 475 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 525 мг, приблизительно 550 мг, приблизительно 575 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 625 мг, приблизительно 650 мг, приблизительно 675 мг, приблизительно 700 мг, приблизительно 725 мг, приблизительно 750 мг, приблизительно 775 мг или приблизительно 800 мг. Подразумевается, что значения и диапазоны, промежуточные по отношению к приведенным выше значениям, также являются частью настоящего изобретения. Согласно некоторым вариантам осуществления средство РНКи можно составить в подходящей концентрации так, чтобы субъекту вводили подходящий объем композиция, такой как приблизительно 1,0 мл, приблизительно 1,1 мл, приблизительно 1,2 мл, приблизительно 1,3 мл, приблизительно 1,4 мл, приблизительно 1,5 мл, приблизительно 1,6 мл, приблизительно 1,7 мл, приблизительно 1,8 мл, приблизительно 1,9 мл или приблизительно 2,0 мл фармацевтической композиции. Например, согласно одному варианту осуществления средство РНКи составляют в подходящем фармацевтическом составе в количестве, составляющем приблизительно 200 мг/мл, так что введение субъекту приблизительно 1,5 мл состава обеспечивает фиксированную дозу средства, составляющую 300 мг.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют то же значение, которое обычно понимают специалисты в области техники, к которой относится настоящее изобретение. Все публикации, заявки на выдачу патентов, патенты и другие ссылки, упомянутые в настоящем документе, а также перечень последовательностей и фигуры полностью включены посредством ссылки. В случае конфликта настоящее описание, включая в себя определения, будет иметь преимущественную силу. Кроме того, материалы, методы и примеры являются только иллюстративными и не предназначены для ограничения.

Примеры

Провели плацебо-контролируемое двойное слепое рандомизированное испытание для сравнения

эффекта различных доз средства РНКи, вводимого в виде однократных или многократных подкожных инъекций, у пациентов с высоким сердечно-сосудистым риском и повышенным содержанием ХС-ЛПНП.

Методы.

Средство РНКи представляло собой двухцепочечную рибонуклеиновую кислоту, содержащую антисмысловую цепь с нуклеотидной последовательностью 5'-asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa-3' (SEQ ID NO: 3) и смысловую цепь с нуклеотидной последовательностью 5'- csusagacCfuGfud-Tuugcuuuugu - 3' (SEQ ID NO: 4), где a, g, c и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) A, G, C или U; Af, Gf, Cf или Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C или U; dT представляет собой 2' -дезокситимидин; и s представляет собой тиофосфатную связь. Двухцепочечная рибонуклеиновая кислота содержала ковалентно прикрепленный лиганд трехантенный GalNAc.

Первичная цель состояла в том, чтобы оценить эффект лечения с помощью средства РНКи на содержания ХС-ЛПНП в 180 день. Второстепенная цель состояла в том, чтобы оценить эффект средства РНКи на следующее: (i) содержания ХС-ЛПНП в 90 день; (ii) содержания ХС-ЛПНП в другие моменты времени; (iii) содержания PCSK9 с течением времени; (iv) содержания других липидов, липопротеинов, аполипопротеинов; (v) доля пациентов, достигших предварительно определенных глобальных рекомендаций в отношении липидов; (vi) индивидуальная чувствительность к различным дозам; (vii) продолжительность гиполипидемического действия различных доз; и (viii) профиль безопасности и переносимости средства РНКи. Исследование также собрало/оценило эффект средства РНКи на: (a) явления со стороны сердечно-сосудистой системы, такие как смерть по причине сердечно-сосудистой патологии, нефатальный инфаркт миокарда, реанимированная остановка сердца и нефатальный инсульт (ишемический и геморрагический); и (b) антитела к лекарственным средствам для средства РНКи.

В исследовании приняли участие 501 пациент с ASCVD или эквивалентами риска ASCVD (например, с сахарным диабетом и семейной гиперхолестеринемией) и повышенным содержанием ХС-ЛПНП. Пациентов включали в исследование, если они соответствовали всем следующим критериям включения до рандомизации:

- (a) пациенты мужского или женского пола в возрасте ≥ 18 лет;
- (b) ASCVD или эквиваленты риска ASCVD в анамнезе (симптоматический атеросклероз, сахарный диабет 2 типа, семейная гиперхолестеринемия, включая в себя пациентов с 10-летним риском явления со стороны сердечно-сосудистой системы, оцениваемым по Фрамингемской шкале риска* (балл по шкале $>20\%$), или эквивалент характеризуется целевым содержанием ХС-ЛПНП, составляющим <100 мг/дл);
- (c) содержание ХС-ЛПНП в сыворотке $\geq 1,8$ ммоль/л (≥ 70 мг/дл) для пациентов с ASCVD или $\geq 2,6$ ммоль/л (≥ 100 мг/дл) для пациентов с эквивалентом риска ASCVD при скрининге;
- (d) содержание триглицерида натощак $<4,52$ ммоль/л (<400 мг/дл) при скрининге;
- (e) рассчитанная скорость клубочковой фильтрации >30 мл/мин по расчетной скорости клубочковой фильтрации (eGFR) с использованием стандартизированной локальной клинической методологии;
- (f) пациенты, принимающие статины, должны получать максимально переносимую дозу (на усмотрение исследователя);
- (g) пациенты, получающие гиполипидемические виды терапии (такие как статин и/или эзетимиб), должны получать стабильную дозу в течение ≥ 30 дней до скрининга, не планируя приема лекарственных средств или изменения дозы во время участия в исследовании; и
- (h) готовность и способность дать информированное согласие до начала любых процедур, связанных с исследованием, и готовность соблюдать все необходимые процедуры исследования.

*по Фрамингемской шкале риска $>20\%$

Пациентов исключали из исследования, если любой из следующих критериев исключения применяется непосредственно перед рандомизацией:

- (a) любое неконтролируемое или серьезное заболевание или любое медицинское или хирургическое состояние, которое может или мешать участию в клиническом исследовании, и/или подвергать пациента значительному риску (согласно суждению исследователя [или уполномоченного лица]), если он/она участвует в клиническом исследовании;
- (b) известное основное заболевание или хирургическое, физическое или медицинское состояние, которое, по мнению исследователя (или уполномоченного лица), может помешать интерпретации результатов клинического исследования;
- (c) сердечная недостаточность II, III или IV класса согласно Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA), или последняя известная фракция выброса левого желудочка $<30\%$;
- (d) аритмия сердца в пределах 3 месяцев до рандомизации, которая не контролируется лекарственными средствами или путем абляции;
- (e) какой-либо геморрагический инсульт в анамнезе;
- (f) серьезное нежелательное явление со стороны сердца в пределах 6 месяцев перед рандомизацией;
- (g) неконтролируемая тяжелая гипертензия: систолическое давление крови >180 мм рт. ст. или диастолическое давление крови >110 мм рт. ст. перед рандомизацией несмотря на антигипертензивную терапию;

(h) плохо компенсированный сахарный диабет 2 типа, т.е. гликированный гемоглобин A1c (HbA1c) >10,0% перед рандомизацией;

(i) активное заболевание печени, определяемое как любая известная в настоящее время инфекционная, неопластическая или метаболическая патология печени или необъяснимое повышение содержания аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы >2×ULN или повышение содержания общего билирубина >1,5×ULN при скрининге, подтвержденное повторным измерением с интервалом по меньшей мере в 1 неделю;

(j) серьезное сопутствующее заболевание, при котором продолжительность предстоящей жизни пациента меньше продолжительности испытания (например, острая системная инфекция, рак или другие серьезные заболевания); это включает в себя все формы рака, за исключением базальноклеточной карциномы, возникшей за >5 лет до скрининга, в отношении которой проводят лечение;

(k) женщины, которые являются беременными или кормящими грудью, или которые характеризуются детородным потенциалом и не хотят использовать по меньшей мере два способа контрацепции (пероральные контрацептивы, барьерные методы, одобренный контрацептивный имплантат, длительная инъекционная контрацепция, внутриматочная спираль или перевязка маточных труб)**; женщины, которые >2 лет находятся в постменопаузе, что определяли как ≥1 года после последней менструации, и если возраст составляет менее 55 лет с отрицательным тестом на беременность в пределах 24 ч после рандомизации или лица, подвергшиеся хирургической стерилизации, освобождаются от этого исключения;

(l) мужчины, которые не хотят использовать приемлемый метод контроля рождаемости в течение всего периода исследования (т.е. презерватив со спермицидом);

(m) известное злоупотребление алкоголем и/или наркотиками в анамнезе;

(n) лечение другими исследуемыми лекарственными продуктами или устройствами в течение 30 дней или пяти периодов полужизни, в зависимости от того, что дольше;

(o) применение других исследуемых лекарственных продуктов или устройств в течение курса исследования;

(p) любое состояние, которое, по мнению исследователя, может помешать проведению исследования, такое как без ограничения:

(i) не подходит для настоящего исследования, включая в себя пациентов, которые не могут общаться или сотрудничать со исследователем;

(ii) не в состоянии понять требования протокола, инструкции и ограничения, связанные с исследованием, характер, объем и возможные последствия исследования (включая в себя пациентов, чье сотрудничество сомнительно из-за злоупотребления наркотиками или алкогольной зависимости);

(iii) малая вероятность выполнения требований протокола, инструкций и ограничений, связанных с исследованием (например, нежелание сотрудничать, неспособность вернуться для последующих визитов и маловероятность завершения исследования);

(iv) наличие какого-либо медицинского или хирургического состояния, которое, по мнению исследователя, может повысить риск для пациента в связи с участием в исследовании;

(v) является причастным или родственником кого-либо, непосредственно участвующего в проведении исследования;

(vi) любое известное когнитивное нарушение (например, болезнь Альцгеймера); и

(q) предшествующее или текущее лечение (в пределах 90 дней после скрининга) моноклональными антителами, направленными на PCSK9.

**За всю продолжительность исследования.

Пациентов подвергали скринингу и рандомизировали на шесть групп, получающих средство РНКи и групп плацебо. Распределение лечения стратифицировали по странам и текущему использованию статинов или других липид-модифицирующих видов лечения. Каждый пациент получил (i) одну или две инъекции в 1 день только средства РНКи или плацебо, или (ii) одну инъекцию в 1 день и вторую инъекцию в 90 день средства РНКи или плацебо.

Краткое изложение дизайна исследования показано на фиг. 2. В 1 день всех подходящих для участия пациентов рандомизировали, и они получили первое подкожное введение средства РНКи или плацебо. Средство РНКи вводили или в виде однократной подкожной инъекции (дозы: 200, 300 мг), или двух инъекций (доза: 500 мг). Пациенты, рандомизированные в группу для получения второй дозы, получали вторую инъекцию средства РНКи или плацебо в 90 день.

Плацебо вводили в виде либо одной, либо двух подкожных инъекций физиологического раствора. Объем плацебо соответствовал объему средства РНКи в каждой дозе и схеме введения, но не между схемами введения. Например, группа плацебо для дозы 200 мг получала 1,0 мл плацебо, тогда как группа плацебо для дозы 300 мг получала 1,5 мл плацебо.

Продолжительность участия пациентов в исследовании составляла приблизительно 224 дня, которые включали в себя скрининг, введение исследуемого лекарственного средства, курс однократных или многократных инъекций и период последующего наблюдения до 210 дня. Если необходимо дополнительное последующее наблюдение, максимальная продолжительность участия составляла 374 дня. Оцен-

ки окончания исследования проводили в 210 день, за исключением тех пациентов, у которых содержания ХС-ЛПНП не вернулись в пределах 20% недостатка от начального содержания; этих пациентов оценивали в 210 день, а затем при визитах последующего наблюдения, проводимых каждые 30 дней, или до наступления 360-ого дня, или возвращения содержания ХС-ЛПНП в пределах 20% недостатка от начального содержания (в зависимости от того, что наступило раньше).

Для групп с однократной дозой (одна или две инъекции в 1 день) пациенты придерживались следующего графика:

- (a) скрининг: день от -14 до -1,
- (b) рандомизация, начало введения исследуемого лекарственного средства: 1 день,
- (c) фаза лечения: 1 день,
- (d) последующее наблюдение:
 - (i) последующее наблюдение: дни от 2 до 210; EOS на 210 день,
 - (ii) дополнительное последующее наблюдение (для пациентов, у которых содержания ХС-ЛПНП не вернулись к >80% от исходных значений; пациенты будут возвращаться каждый месяц для последующего наблюдения, пока это содержание не будет достигнуто или до 360 дня): дни 240, 270, 300, 330 и 360.

Для групп с двумя дозами (одна инъекция в 1 день и 90 день каждая) пациенты придерживались следующего графика:

- (a) скрининг: день от -14 до -1,
- (b) рандомизация, начало введения исследуемого лекарственного средства: 1 день,
- (c) фаза лечения: 1 день - 90 день,
- (d) последующее наблюдение:
 - (i) последующее наблюдение: дни от 91 до 210; EOS на 210 день,
 - (ii) дополнительное последующее наблюдение (для пациентов, у которых содержания ХС-ЛПНП не вернулись к >80% от исходных значений; пациенты будут возвращаться каждый месяц для последующего наблюдения, пока это содержание не будет достигнуто или до 360 дня): дни 240, 270, 300, 330 и 360.

Первичную конечную точку оценивали путем определения процентного изменения ХС-ЛПНП от исходного уровня до 180 дня.

Вторичные конечные точки оценивали путем определения (i) процентного изменения содержания ХС-ЛПНП от исходного уровня до 90 дня; (ii) процентное изменение содержания ХС-ЛПНП от исходного уровня до 14, 30, 60, 120, 150 и 210 дня; (iii) доля пациентов в каждой группе с содержанием ХС-ЛПНП больше чем 80% от исходного значения на 180 и 210 день; (iv) продолжительность времени для лечения пациентов до возвращения 80% от исходного уровня или выше ХС-ЛПНП или белка PCSK9; (v) индивидуальная чувствительность, определяемая как число пациентов, достигших при лечении содержания ХС-ЛПНП <25, <50, <70 и <100 мг/дл в 90, 120 и 180 дни; (vi) доля пациентов в каждой группе с больше чем или равным 50% снижением содержания ХС-ЛПНП по сравнению с исходным уровнем в 90, 120 и 180 дни; (vii) процентное изменение содержания PCSK9 от исходного уровня до 14, 30, 60, 90, 104, 120, 150, 180 и 210 дня; (viii) процентное изменение других липидов, липопротеинов, аполипопротеинов от исходного уровня при каждом последующем визите до 210 дня; и (ix) доля пациентов в каждой группе, которые достигли глобальных целей по модификации липидов для своего уровня риска ASCVD.

Оценки эффективности включали в себя измерение эффектов средства РНКи на содержания липидов и липопротеинов ХС-ЛПНП, включая в себя общий холестерин, триглицериды, ХС-ЛПВП, ХС-нЛПВП, ХС-ЛПОНП, Apo-A1, Apo-B, Lp(a), CRP и PCSK9.

Нежелательные явления, серьезные нежелательные явления, показатели жизненно важных функций, клинические лабораторные показатели (гематологический анализ, анализ свертываемости крови, химический анализ и анализ мочи) и электрокардиограммы (ЭКГ) собирали во время установленных визитов вплоть до визита EOS (окончание исследования) (210 день). Нежелательные явления, серьезные нежелательные явления и клинические лабораторные показатели продолжали оценивать во время дополнительных ежемесячных визитов последующего наблюдения (для пациентов, у которых содержания ХС-ЛПНП не вернулись к >80% от исходных значений). Явления со стороны сердечно-сосудистой системы описывали как нежелательные явления для сбора информации о сердечно-сосудистых явлениях, таких как смерть по причине сердечно-сосудистой патологии, нефатальный инфаркт миокарда, значительные коронарные явления (смерть от ИБС, реанимированная остановка сердца, нефатальный инфаркт миокарда), ишемический инсульт и геморрагический инсульт.

Кроме того, антитела к лекарственному средству оценивали для средства РНКи. Образование антител к лекарственному средству оценивали в 1 день (до и через четыре часа после инъекции) и в 30, 60, 90, 120, 150, 180 день (150 и 180 день только у пациентов, которые получили вторую дозу средства РНКи) и 210 или до тех пор, пока какой-либо ответ антитела к лекарственному средству не станет отрицательным в течение продолжительности исследования. Для пациентов, у которых содержания ХС-ЛПНП не вернулись к >80% от исходных значений, образование антител к лекарственному средству оценивали либо тогда, когда содержания ХС-ЛПНП вернулись к границам нормы, либо при визите последующего наблюдения через 1 год.

Независимый комитет по мониторингу данных (DMC) рассмотрел данные о безопасности, начиная с того момента, когда первые 40 пациентов получили первую инъекцию средства РНКи или плацебо и завершили визит последующего наблюдения на 14-й день. После этого DMC проверял данные о безопасности каждые два месяца до конца испытания.

Первичную конечную точку проанализировали как среднее процентное изменение, определяемое по методу наименьших квадратов от исходного уровня до 180 дня. Его рассчитывали с помощью модели линейных эффектов с повторными измерениями, которая включала в себя исследуемую группу, исходное значение, запланированный визит последующего наблюдения и взаимодействие исследуемой группы с запланированным визитом. Анализ проводили с использованием процедуры PROC MIXED в программном обеспечении SAS с авторегрессивной дисперсионной структурой, которая включает в себя лечение при каждом визите как фиксированные эффекты и пациентов как случайные эффекты. Как для первичной, так и для вторичной конечных точек значения P скорректировали для множественных сравнений с использованием критерия Даннетта для сравнения между шестью группами, получающими средство РНКи, и группами сравнения, получающими плацебо.

Отдельные анализы выполняли для каждой стратегии дозирования, т.е. для одной дозы и двух доз. Уровень значимости ошибки типа I для двустороннего критерия составлял 0,05.

Всех пациентов, которые получили по крайней мере одну дозу средства РНКи или плацебо, включали в анализ безопасности (популяция безопасности). Предварительно заданную модифицированную популяцию с назначенным лечением определяли как всех рандомизированно распределенных на группы пациентов, которые получали по меньшей мере одну дозу исследуемого средства и для которых были доступны как исходные измерения содержания ХС-ЛПНП, так и измерения содержания ХС-ЛПНП последующего наблюдения в 180 день. Анализ на всех рандомизированных пациентах согласно назначенному лечению выполняли с использованием подстановки для отсутствующих данных пациентов.

Данные по временной динамике представлены в виде средних значений с 95% доверительными интервалами. Изменчивость ответов среди пациентов изображена графически с помощью каскадных диаграмм. Анализы выполняли с использованием программного обеспечения SAS версии 9.2 и выше (SAS Institute).

Результаты.

Исходные демографические данные и анамнез, показанные в табл. 1 и 2, демонстрируют, что пациенты представлены пропорционально. В ходе исследования 73% пациентов получали терапию статинами, а 31% получали эзетимиб.

Однократное введение средства РНКи в 1 день во всех дозах приводило к средним снижениям ХС-ЛПНП в диапазоне от 44,5 до 51,5% ниже исходного уровня (см. фиг. 3 и 4) в 30 день с максимальным снижением приблизительно в 60 день. Однократное введение средства РНКи в дозе, составляющей 200 мг, снижало содержание ХС-ЛПНП более чем на 40% ниже исходного уровня в дни 30, 60 и 90 и ниже 25% вплоть до 270 дня, как показано на фиг. 3. Однократное введение дозы, составляющей 300 мг, и дозы, составляющей 500 мг средства РНКи, снижало содержание ХС-ЛПНП более чем на 40% ниже исходного уровня с 15 дня вплоть до 150 дня и ниже 30% вплоть до 270 дня (фиг. 3). Для каждой из дозировок средства РНКи содержание ХС-ЛПНП оставалось более чем на 20% ниже исходного уровня вплоть до 360 дня (фиг. 3). Средние значения снижения, определенные по методу наименьших квадратов, были значительно больше после однократной дозы средства РНКи (снижение от 27,9 до 41,9%), чем в сочетании с плацебо (увеличение на 2,1%) ($P < 0,001$ для всех доз) (табл. 4). Среднее снижение содержания ХС-ЛПНП по сравнению с исходным уровнем в дозах, составляющих 200, 300 и 500 мг, находилось в диапазоне от 26 до 34,3% в 270 день и от 30,2 до 32,2% в 360 день. Кроме того, скорректированное по времени процентное изменение содержания ХС-ЛПНП между исходным уровнем и 360 днем (т.е. среднее значение процентного изменения содержания ХС-ЛПНП в каждый момент времени, когда содержание ХС-ЛПНП измеряли между исходным уровнем и 360 днем) составило -31,6, -38,1 и -39,8% для доз, составляющих 200, 300 и 500 мг, соответственно (см. фиг. 4). Скорректированное по времени абсолютное изменение содержания ХС-ЛПНП между исходным уровнем и 360 днем (т.е. среднее абсолютного изменения содержания ХС-ЛПНП в каждый момент времени, когда содержание ХС-ЛПНП измеряли между исходным уровнем и 360 днем) составило -39,1, -43,6 и -53,0 мг/дл для доз, составляющих 200, 300 и 500 мг, соответственно (см. фиг. 5). Обращаясь к ответам отдельных пациентов, коэффициент изменчивости изменения содержания ХС-ЛПНП среди отдельных пациентов, которым вводили дозы, составляющие 200, 300 и 500 мг, составлял 45,2, 60,8 и 50,7% соответственно от исходного уровня до 270 дня, и было 45,1, 56,8 и 50,2% соответственно от исходного уровня до 360 дня (см. фиг. 6А-6В).

Введение второй дозы средства РНКи в 90 день дополнительно снижало содержание ХС-ЛПНП по сравнению с исходным уровнем. Для всех доз средние снижения содержания ХС-ЛПНП находилось в диапазоне от 34,2 до 44,1 в 90 день и от 41,1 до 54,6% в 120 день (см. фиг. 7). Различия между режимами с двумя дозами и плацебо были значительными: в 180 день средние значения снижения содержания ХС-ЛПНП, определенные по методу наименьших квадратов, по сравнению с исходным уровнем у пациентов, получавших две дозы средства РНКи, находилось в диапазоне от 35,5 до 52,6%, тогда как в группе плацебо наблюдали увеличение по сравнению с исходным уровнем на 1,8% ($P < 0,001$ для всех сравнений с

плацебо) (см. табл. 4). Второе введение дозы 100 мг и дозы 200 мг средства РНКи поддерживало содержание ХС-ЛПНП на уровне более чем на 30 и 40%, соответственно, ниже исходного уровня вплоть до 210 дня (см. фиг. 7). Второе введение дозы 300 мг поддерживало содержание ХС-ЛПНП на уровне более чем на 50% ниже исходного уровня от 120 до 210 дня (фиг. 7). Среднее снижение содержания ХС-ЛПНП от исходного уровня в дозах, составляющих 100, 200 и 300 мг, находилось в диапазоне от 25,6 до 43,4% в 270 день и от 13,3 (доза 100 мг) до 33,3% (доза 300 мг) в 360 день. Кроме того, скорректированное по времени процентное изменение содержания ХС-ЛПНП между исходным уровнем и днем 360 составило -31,0, -41,2 и -46,8% для доз, составляющих 200, 300 и 500 мг, соответственно (см. фиг. 4). Скорректированное по времени абсолютное изменение содержания ХС-ЛПНП между исходным уровнем и днем 360 составило -39,6, -39,1 и -57,7 мг/дл для доз 200, 300 и 500 мг, соответственно (см. фиг. 5). Ответы отдельных пациентов показаны на фигурах 8 и 9. В 180 день среднее снижение содержания ХС-ЛПНП от исходного уровня составило 52,6%, а максимальное составило 81% (см. фиг. 8). Коэффициент изменчивости изменения содержания ХС-ЛПНП среди пациентов, которым вводили 100, 200 и 300 мг, составлял 45,7, 82,3 и 73,7% соответственно от исходного уровня до 270 дня и составлял 46,0, 77,5, и 74,2%, соответственно, от исходного уровня до 360 дня (см. фиг. 9А-9В).

Среди пациентов, получавших плацебо на фоне максимально возможной дозы статина, в 180 день наблюдали значительную изменчивость изменений содержаний ХС-ЛПНП по сравнению с исходным уровнем (средняя абсолютная разница $[\pm SD]$, $-0,7 \pm 25,6$ мг на децилитр $[-0,02 \pm 0,66$ ммоль на литр]) (см. фиг. 10А). Напротив, у всех пациентов, которые получали две дозы по 300 мг средства РНКи, наблюдали снижение содержаний ХС-ЛПНП в 180 день (среднее абсолютное изменение содержания ХС-ЛПНП, $-64,2 \pm 20,7$ мг на децилитр $[-1,66 \pm 0,54$ ммоль на литр]) (см. фиг. 10В), и у 54% пациентов снижение составило 50% и более. В этой группе, получавшей дозу средства РНКи, у 5, 48 и 66% пациентов характеризовались содержаниями ХС-ЛПНП в 180 день, составляющими меньше чем 25 мг на децилитр (0,65 ммоль на литр), меньше чем 50 мг на децилитр (1,3 ммоль на литр) и меньше чем 70 мг на децилитр (1,8 ммоль на литр) соответственно. В 240 день индивидуальные содержания холестерина оставались ниже, чем на исходном уровне в той же группе пациентов (см. фиг. 10С).

Сравнение данных отдельных пациентов между введением однократной дозы, составляющей 300 мг, и двукратной дозы, составляющей 300 мг, указывает на то, что введение 300 мг средства РНКи в 1 день, 90 день, 270 день и каждые 6 месяцев после этого должно уменьшать индивидуальную изменчивость и обеспечивает устойчивые снижения содержаний ХС-ЛПНП примерно на 50% (см. фиг. 11А-11В).

Также наблюдали значительные снижения содержаний ХС не-ЛПВП и Аро-В, и не наблюдали значительного изменения содержаний высокочувствительного С-реактивного белка среди пациентов, которым рандомизированно назначили получение средства РНКи. Процентные изменения от исходного уровня для дополнительных липидных измерений показаны в табл. 3-5.

Как показано на фиг. 12 и 13, после того, как средство РНКи вводили в 1 день, содержания PCSK9 снижались от исходных содержаний в среднем на 59,6 и 68,7% в диапазоне доз средства РНКи от 100 мг до 500 мг. В 30 день содержания PCSK9 дополнительно снизились до уровня от 66,2 до 74,0% ниже исходных содержаний, и аналогичные снижения произошли в 60 и 90 день. Среди пациентов, получавших однократное введение средства РНКи, средние снижения содержаний PCSK9 в 180 день находилось в диапазоне от 47,9 до 59,3% ($P < 0,001$ для каждой дозы по сравнению с плацебо) (см. табл. 4). Для пациентов, получавших однократную дозу, составляющую 300 или 500 мг, содержания PCSK9 оставались более чем на 60% ниже исходного уровня вплоть до 150 дня. Для сравнения, среди пациентов, которые получили две дозы средства РНКи, дальнейшие снижения содержаний PCSK9 наблюдали после второй дозы. В 90 день у этих пациентов снижения составили с 17,0 до 62,8%, а в 120 день они снизились с 60,4 до 74,5%. В 180 день средние снижения содержаний PCSK9 от исходного уровня у пациентов, получавших две дозы средства РНКи, находились в диапазоне от 53,2 до 69,1% ($P < 0,001$ для каждой дозы по сравнению с плацебо) (см. табл. 4). Для пациентов, получавших две дозы, составляющие 200 мг или 300 мг, содержания PCSK9 оставались более чем на 60% ниже исходного уровня вплоть до 240 дня. В связи со схемами введения как одной дозы, так и двух доз средства РНКи снижения содержаний PCSK9 в 270 день составляли больше чем приблизительно 40% (см. фиг. 12 и 13).

Модель разработали и валидизировали для прогнозирования содержаний ХС-ЛПНП с течением времени, когда средство РНКи вводят по 300 мг дважды или трижды в год. Модель валидизировали с минимальным различием между наблюдаемыми и ожидаемыми данными к 210 дню. Результаты в 270 день были правильно спрогнозированы фармакодинамической моделью с использованием данных от пациентов с последующим наблюдением вплоть до 210 дня. На фиг. 14 показаны смоделированные содержания ХС-ЛПНП через 22 месяца.

В 210 день нежелательные явления зарегистрировали у 76% пациентов, получавших средство РНКи, и у 76% пациентов, получавших плацебо (табл. 7; см. также табл. 6). Большинство из этих явлений (95%) были легкой или средней степени тяжести (степень 1 или 2). Частота серьезных нежелательных явлений составила 11% среди пациентов, получавших средство РНКи, и 8% среди пациентов, получавших плацебо. Два пациента прекратили участие в испытании из-за нежелательных явлений: один из-за

инфекции опоясывающего герпеса (группа плацебо), а другой из-за гриппа или ринофарингита (группа, которой вводили две дозы, составляющие 100 мг средства РНКи). Наиболее распространенными нежелательными явлениями (встречающимися у >2% пациентов) являлись миалгия, головная боль, усталость, ринофарингит, боль в спине, гипертензия, диарея и головокружение, причем частота этих явлений существенно не различалась между группами, получавшими средство РНКи, и группами, получавшими плацебо.

Реакции в месте инъекции возникали у 4% пациентов, получавших однократную дозу, и у 7% пациентов, получавших две дозы (после одной или обеих доз) средства РНКи (объединенная частота, 5%); реакции в месте инъекции не наблюдались ни у одного пациента, которому назначали плацебо (табл. 7; см. также табл. 8 и 9).

Два пациента характеризовались повышенным содержанием печеночной аспаратаминотрансферазы (>3 раза выше верхнего предела нормального диапазона), один в группе плацебо с однократной дозой и один в группе введения средства РНКи с однократной дозой, составляющей 300 мг; у пациента из группы, получавшей средство РНКи с дозой, составляющей 300 мг, также наблюдали повышение содержания печеночной аланинаминотрансферазы. Еще два пациента (один в группе, получавшей две дозы по 100 мг средства РНКи, и один в группе, получавшей две дозы по 300 мг средства РНКи) также характеризовались повышением содержания аланинаминотрансферазы. Все повышения содержания аминотрансферазы являлись временными. У пациентов с нормальными содержаниями билирубина на исходном уровне не наблюдали повышений содержания билирубина, связанных со средством РНКи или плацебо, и ни один случай не соответствовал определению закона Хая, согласно которому пациент подвергается высокому риску смертельного поражения печени, вызванного лекарственными средствами, если он принимает лекарственное средство, которое вызывает гепатоцеллюлярное повреждение (не холестатическое повреждение) с желтухой. У одного пациента наблюдали положительные результаты на антитела к лекарственному средству перед первой инъекцией; не было зарегистрировано других случаев появления антитела к лекарственному средству (см. табл. 10).

Не получили никаких дополнительных данных о безопасности в последующем наблюдении с 210 по 360 день (см. табл. 11).

Две смерти произошли в конце испытания. Первый случай произошел у пациента, который был рандомизированно отнесен к группе, получавшей однократную дозу, составляющую 500 мг средства РНКи, и у которого была давняя васкулопатия и частая стенокардия. У него была остановка сердца доза в присутствии специалиста исследовательского центра и умер в 104 день. Вторая смерть произошла у мужчины в группе, получавшей две дозы по 200 мг средства РНКи, у которого была аневризма грудного отдела аорты, которую восстанавливали чрескожно после включения в исследование, и у которого впоследствии развились фистула и сепсис; он умер через 198 дней в испытании.

Заключение.

Эти результаты показали, что средство РНКи значительно снижало содержание ХС-ЛПНП у пациентов в течение нескольких месяцев. Введение средства РНКи снижало содержание Lp(a) и общего холестерина среди других липидных параметров и увеличивало содержание ХС-ЛПВП. Средство РНКи продемонстрировало эффект зависимости ответа от дозы для PCSK9, ХС-ЛПНП, ХС не-ЛПВП и Apo-B. Вариабельность ЛПНП-Х у отдельных пациентов практически устранили, и между нечастыми введениями наблюдали устойчивый эффект.

Кроме того, введение средства РНКи хорошо переносилось пациентами и не было связано с серьезными проблемами безопасности. ТЕАЕ являлись редкими и легкими или умеренными, а инъекционная нагрузка являлась незначительной.

В целом, средство РНКи предлагает возможность улучшить соблюдение пациентом режима лечения.

Таблица 1. Исходные демографические данные и клинические характеристики*

		Средство РНКи в однократной дозе по сравнению с плацебо				Средство РНКи в двух дозах по сравнению с плацебо			
		Плацебо n = 65	200 мг n = 60	300 мг n = 61	500 мг n = 65	Плацебо n = 62	100 мг n = 61	200 мг n = 62	300 мг n = 61
Возраст	годы	62,0±11,4	63,9±10,8	63,9±12,8	62,1±12,5	62,8±10,3	65,2±9,4	62,3±10,9	64,1±9,4
Раса									
Европеоидная	n (%)	59 (92) ^a	53 (90) ^b	55 (90)	62 (95)	58 (94)	56 (92)	60 (97)	58 (95)
Другая		5 (8) ^a	6 (10) ^b	6 (10)	3 (5)	4 (6)	5 (8)	2 (3)	3 (5)
Мужской пол	n (%)	42 (65)	39 (65)	41 (67)	46 (71)	33 (53)	38 (62)	39 (63)	45 (74)
ВМІ	кг/м ²	30,1±5,1	28,2±5,5	28,1±4,2	27,9±4,2	29,2±4,8	29,2±6,0	30,5±5,0	29,2±6,7
Курящие, в настоящее время ^c	n (%)	7 (10,8)	9 (15,0)	11 (18,0)	8 (12,3)	8 (12,9)	7 (11,5)	9 (14,5)	7 (11,5)
Гипертензия	n (%)	43 (66,2)	38 (63,3)	42 (68,9)	38 (59,4)	44 (72,1)	45 (73,8)	47 (75,8)	43 (70,5)
Предшествующее ACSVD	n (%)	45 (69)	43 (72)	48 (77)	36 (55)	46 (74)	43 (69)	41 (65)	43 (70)
Семейная гиперхолестеринемия	n (%)	1 (2)	6 (10)	2 (3)	7 (11)	3 (5)	3 (5)	3 (5)	3 (5)
Сахарный диабет	n (%)	15 (23)	12 (20)	11 (18)	11 (17)	14 (23)	20 (33)	21 (34)	14 (23)
Первичная профилактика	n (%)	12 (18)	7 (12)	7 (11)	11 (17)	6 (10)	6 (10)	9 (14)	7 (11)
Любое липид-модифицирующее лечение ^d	n (%)	50 (78)	52 (87)	50 (83)	48 (80)	51 (84)	48 (81)	49 (82)	50 (85)
Лечение статинами	n (%)	45 (70)	50 (83)	45 (75)	39 (65)	47 (77)	42 (71)	40 (67)	43 (73)
Лечение статинами высокой интенсивности	n (%)	26 (41)	31 (52)	23 (38)	20 (33)	22 (36)	28 (48)	23 (38)	20 (34)
Эзетимб (Ezetimibe) ^d	n (%)	21 (33)	23 (38)	17 (28)	21 (35)	17 (28)	18 (31)	20 (33)	15 (25)
Общий холестерин	мг/дл ^e	207,7±59,0	200,0±49,4	201,4±47,8	218,3±52,8	208,4±54,7	207,7±62,8	219,1±84,9	221,7±65,5
ХС-ЛПНП	мг/дл ^e	128,5±51,3	122,8±35,9	117,8±40,5 ^b	136,9±45,3	125,2±44,3 ^b	128,5±49,5 ^f	138,8±76,9 ^b	131,3±60,3 ^f
ХС не-ЛПВП	мг/дл ^e	157,8±55,2	149,9±44,7	150,4±49,0	169,2±53,3	157,1±53,7	160,9±63,7	170,5±85,3	165,4±61,0
ХС-ЛПВП	мг/дл ^e	49,9±13,6	50,0±11,7	51,0±13,3	49,1±15,4	51,2±16,1	46,8±14,0	48,6±13,0	47,4±13,6
Триглицерид	мг/дл ^e								
Среднее значение (IQR) ^e		125 (95–170)	115 (84–149)	134 (92–179)	130 (94–193)	137 (103–187)	126 (91–198)	127 (90–200)	132 (105–185)
ХС-ЛПОНП	мг/дл ^e	23,9±18,6	27,1±19,7	31,5±19,6	32,4±19,2	30,8±17,0 ^b	33,7±22,9 ^f	31,7±19,8 ^b	32,8±16,0 ^f
Аро-В	мг/дл ^e	102,4±29,6	100,7±23,6	99,2±27,8	109,7±28,4	104,6±31,5	107,6±36,3	108,3±45,4	107,4±32,1
Аро-А1	мг/дл ^e	149,7±27,0	150,6±24,5	153,6±24,1	149,7±28,1	154,4±30,1	145,0±27,1	147,3±23,0	146,9±26,1
Липопротеин (а)	нмоль/дл ^e	27 (8–121) ^g	42 (11–129)	35 (17–141)	28 (12–149)	50 (11–154)	33 (12–128)	36 (7–144)	49 (12–161)
РССК9	нг/мл ^e	404,7±131,3	460,3±142,5	408,9±115,2	416,7±143,7	431,3±132,3	394,2±128,9 ^b	437,4±141,8 ⁱ	416,3±127,3 ^j
Высокочувствит. С-реактивный белок									
Среднее значение (IQR) ^e	мг/дл ^e	1,6 (0,7–3,1)	1,0 (0,5–2,0)	1,6 (0,7–3,5)	1,9 (0,9–3,4)	1,6 (0,8–4,4)	1,3 (0,5–2,6)	1,6 (0,7–3,0)	1,8 (0,7–3,8)

* значения плюс-минус означают среднее значение ±SD (стандартное отклонение),

ВМІ=индекс массы тела,

ХС-ЛПНП=холестерин липопротеинов низкой плотности,

ХС-ЛПВП=холестерин липопротеинов высокой плотности,

ХС-ЛПОНП=холестерин липопротеинов очень низкой плотности,

Аро-В=аполипопротеин В,

Аро-А1=аполипопротеин А1,

РССК9=пропротеиновая конвертаза субтилизин-кексинового типа 9,

^a n=64,

^b n=59,

^c в пределах последних 30 дней,

^d популяция mITT (однократная доза: плацебо, n=64; 200 мг, 300 мг и 500 мг, n=60; две дозы: плацебо, n=61; 100 мг и 300 мг, n= 59; 200 мг, n=60),

^e измерение при скрининге популяции mITT (однократная доза: плацебо, n=64; 200 мг, 300 мг и 500 мг, n=60; две дозы: плацебо, n=61; 100 мг, 200 мг, 300 мг, n=59),

^f n=56,

^g n=63,

^h n=58,

ⁱ n=60,

^j n=57.

Таблица 2. Исходные демографические данные и клинические характеристики (пациенты, получающие средство РНКи, объединены)

		Средство РНКи в однократной дозе по сравнению с плацебо		Средство РНКи в двух дозах по сравнению с плацебо	
		Плацебо	Средство РНКи	Плацебо	Средство РНКи
		n = 65	n = 186	n = 62	n = 184
Возраст	Годы в среднем	62	63	63	64
Мужской пол	%	64,6	67,7	53,2	66,3
Предшествующее ACSVD	%	69,2	67,9	74,2	68,3
Лечение статинами	%	70,3	74,4	77,0	70,2
ХС-ЛПВП	Среднее мг/дл	128,5	125,9	125,2	133,0
ХС не-ЛПВП	Среднее мг/дл	157,8	156,5	157,1	165,6
Аро-В	Среднее мг/дл	102,4	103,2	104,6	107,7
Липопротеин (а)	Среднее значение нмоль/дл	27,0	34,0	50,5	40,0
PCSK9	Среднее нг/мл	404,7	428,7	431,3	416,2

Таблица 3. Эффективность средства РНКи на липидные параметры в 90 день после одной дозы, показанная как процентное изменение от исходного уровня¹

		Плацебо	Средство РНКи			
			100 мг	200 мг	300 мг	500 мг
		n = 124	n = 61	n = 122	n = 122	n = 65
Общий холестерин	среднее (SD)	-0,5% (16)	-22% (12)	-26% (14)	-28% (15)	-30% (11)
Триглицерид	среднее значение	4% (32)	-1% (20)	-6% (30)	-5% (25)	-3% (32)
ХС-ЛПВП	среднее (SD)	-2% (14)	5% (11)	8% (12)	9% (16)	8% (15)
ХС не-ЛПВП	среднее (SD)	-0,2% (20)	-30% (13)	-37% (18)	-40% (19)	-42% (15)
Аро-В	среднее (SD)	-2% (16)	-28% (12)	-34% (15)	-37% (16)	-40% (13)
Lp(a)	среднее значение	-0,4% (31)	-18% (19)	-21% (23)	-14% (114)	-25% (27)

¹ включает в себя пациентов с измерением на исходном уровне и в 90 день для все параметров,
 ХС-ЛПВП=холестерин липопротеинов высокой плотности,
 Аро-В=аполипопротеин,
 В Lp(a)=липопротеин (а).

Таблица 4. Эффективность средства РНКи на липидные параметры в 180 день, показанная как процентное изменение от исходного уровня*

	Средство РНКи в однократной дозе по сравнению с плацебо				Средство РНКи в двух дозах по сравнению с плацебо			
	Плацебо	200 мг	300 мг	500 мг	Плацебо	100 мг	200 мг	300 мг
	n = 64	n = 60	n = 60	n = 60	n = 61	n = 59	n = 60	n = 59
ХС-ЛПНП ^a	2,1 (-2,9 до 7,2)	-27,9 (-33,1 до 22,7) ^b	-38,4 (-43,6 до -33,2) ^b	-41,9 (-47,2 до -36,7) ^b	1,8 (-2,6 до 6,3)	-35,5 (-40,0 до -31,0) ^b	-44,9 (-49,3 до -40,4) ^b	-52,6 (-57,1 до -48,1) ^b
Общий холестерин	1,8±12,1	-17,6±19,0 ^b	-23,7±15,7 ^b	-26,6±10,7 ^b	0,7±12,3	-22,4±12,4 ^b	-26,8±13,0 ^b	-33,2±11,3 ^b
ХС не-ЛПВП	1,5±16,7	-25,1±26,2 ^b	-35,2±20,2 ^b	-36,9±14,0 ^b	1,3±16,9	-31,7±15,1 ^b	-38,9±16,8 ^b	-46,0±14,6 ^b
ХС-ЛПВП	3,8±15,6	4,4±14,8	8,8±11,1 ^c	6,9±14,0	0,5±12,5	7,6±12,2 ^c	10,3±15,3 ^b	8,6±14,9 ^d
Триглицерид ^c	6,4 (-15,9 до 21,9)	1,1 (-18,5 до 17,8)	-12,8 (-27,8 до 7,8) ^b	-12,2 (-25,6 до 7,7) ^c	-3,0 (-17,2 до 22,6)	-6,3 (-17,6 до 10,9)	0,7 (-22,4 до 11,3)	-14,2 (-26,4 до 5,4) ^c
ХС-ЛПОНП ^e	2,4 (-30,7 до 30,5)	-11,6 (-35,8 до 23,3)	-23,8 (-43,0 до -6,4) ^d	-14,6 (-34,8 до 3,5) ^c	2,7 (-20,0 до 26,7)	-16,4 (-31,3 до 0) ^b	-21,2 (-38,5 до 13,2)	-16,0 (-38,2 до 9,1) ^d
Аро-В	1,7±14,7	-22,9±21,0 ^b	-30,8±18,0 ^b	-33,1±12,7 ^b	0,9±13,0	-27,8±13,4 ^b	-35,0±15,8 ^b	-40,9±14,8 ^b
Аро-А1	3,6±10,6	2,9±9,3	3,8±8,9	4,1±10,9	0,8±8,3	5,5±10,6	8,6±11,5 ^d	6,2±11,9
Липопротеин (а) ^c	0,5 (-13,9 до 14,8)	-14,3 (-29,5 до -3,5)	-14,3 (-25,4 до -5,6)	-18,2 (-35 до -1,6)	0,0 (-10,0 до 12,4)	-14,9 (-26,6 до -1,9)	-17,3 (-31,9 до -7,7)	-25,6 (-38,5 до -15,2)
РССК9	2,2±23,4	-47,9±21,0 ^b	-56,0±19,2 ^b	-59,3±18,0 ^b	-1,2±20,7	-53,2±20,9 ^b	-66,2±15,6 ^b	-69,1±12,1 ^b
Высокочувств. С-реактивный белок ^c	-5,3 (-40,8 до 28,4)	7,1 (-30,7 до 70,9)	-16,2 (-45,8 до 50)	-19,8 (-50 до 32,7)	-20 (-50 до 30)	-12,5 (-42,9 до 29,4)	-16,3 (-34,6 до 24,3)	-16,7 (-50,9 до -33,3) ^c

* значения плюс-минус представляют собой среднее \pm SD. Данные представлены для модифицированной популяции с назначенным лечением, которая состояла из всех пациентов, которых подвергли рандомизации, которые получали по меньшей мере одну дозу исследуемого средства, и у которых доступны измерения ХС-ЛПНП как на исходном уровне, так и в 180 день. Количество пациентов, которых исключили из-за пропущенных данных в 180 день, являлось следующим: для схем с однократной дозой, 1 в группе плацебо (2%), 2 в группе, получавшей 300 мг средства РНКи (3%), и 6 в группе, получавшей 500 мг средства РНКи (9%); для схем с двумя дозами, 1 в группе плацебо (2%), 3 в группе, получавшей 100 мг средства РНКи (5%), 3 в группе, получавшей 200 мг средства РНКи (5%), и 6 в группе, получавшей 300 мг средства РНКи (10%). Р-значения для взаимодействия с эффектом фактора лечения в зависимости от визита составляют 0,11 для схемы с однократной дозой и 0,07 для схемы с двумя дозами. Этот анализ основан на моделировании процентного изменения от исходного уровня с помощью лечения, запланированных визитов вплоть до 180 дня, взаимодействия с эффектом фактора лечения в зависимости от визита и исходного содержания ХС-ЛПНП,

^a данные представляют собой средние значения, вычисленные методом наименьших квадратов, и 95% доверительные интервалы,

^b сравнение с изменением в группе плацебо показало статистически значимую разницу (P<0,001 согласно скорректированному критерию Даннетта),

^c сравнение с изменением в группе плацебо показало статистически значимую разницу (P<0,05 согласно скорректированному критерию Даннетта),

^d сравнение с изменением в группе плацебо показало статистически значимую разницу (P<0,01 согласно скорректированному критерию Даннетта),

^e данные представляют собой срединные значения и межквартильные размахи,

ХС-ЛПНП=холестерин липопротеинов низкой плотности,

ХС-ЛПВП=холестерин липопротеинов высокой плотности,

ХС-ЛПОНП=холестерин липопротеинов очень низкой плотности,

Аро-В=аполипопротеин В,

Аро-А1=аполипопротеин А1,

РССК9=пропротеиновая конвертаза субтилизин-кексинового типа 9.

Таблица 5. Эффективность средства РНКи на липидные параметры в 210 день после двух доз, показанная как изменение от исходного уровня

		Плацебо	Средство РНКи		
			100 мг	200 мг	300 мг
		n = 61	n = 59	n = 60	n = 59
Общий холестерин	среднее (SD)	0% (14)	-21% (11)	-26% (12)	-31% (13)
Триглицерид	Срединное значение	2%	-10%	-10%	-9%
ХС-ЛПВП	среднее (SD)	-1% (15)	7% (15)	11% (14)	9% (15)
ХС не-ЛПВП	среднее (SD)	0% (18)	-29% (14)	-38% (15)	-43% (17)
Аро-В	среднее (SD)	1% (14)	-24% (13)	-33% (14)	-39% (15)
Lp(a)	среднее значение	-4%	-18%	-20%	-26%

ХС-ЛПВП=холестерин липопротеинов высокой плотности,

Аро-В=аполипопротеин В,

Lp(a)=липопротеин (а).

Таблица 6. Возникшие в ходе лечения нежелательные явления (TEAE)¹
и другие параметры безопасности вплоть до 90 дня

	Плацебо n = 127	Средство РНКн				
		Объединенные n = 370	100 мг n = 61	200 мг n = 122	300 мг n = 122	500 мг n = 65
Любое TEAE	69 (54%)	198 (54%)	38 (62%)	64 (52%)	68 (56%)	28 (43%)
Серьезное	5 (4%)	22 (6%)	8 (13%)	6 (5%)	6 (5%)	2 (3%)
Тяжелое	5 (4%)	12 (3%)	3 (5%)	3 (2%)	4 (3%)	2 (3%)
Связанное	24 (19%)	67 (18%)	11 (18%)	20 (16%)	27 (22%)	9 (14%)
Смерть	0 (0%)	1 (0,3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (1,5%)
ALT > 3× ULN	0	1 (0,3%)	0	0	1 (0,8%)	0
AST > 3× ULN	0	1 (0,3%)	0	0	1 (0,8%)	0
ALP > 2× ULN	0	3 (0,8%)	1 (1,6%)	0	2 (1,6%) ²	0
Билрубин > 2× ULN ³	0	0	0	0	0	0
СК > 5× ULN	0	2 (0,6%)	0	1 (0,8%) ⁴	1 (0,8%)	0
Миагрия	6 (4,7%)	21 (5,7%)	5 (8,2%)	7 (5,7%)	8 (6,6%)	1 (1,5%)

¹ пересечение порога значимости в любое время после рандомизации независимо от исходного уровня,

² у одного пациента наблюдали значение выше ULN на исходном уровне,

³ ни один пациент не соответствовал критериям закона Хая,

⁴ СК пациента > 3×ULN на исходном уровне,

ALT=аланинаминотрансфераза,

AST=аспартатаминотрансфераза,

ALP=щелочная аминотрансфераза,

ULN=верхняя граница нормального диапазона,

СК=креатинкиназа.

Таблица 7. Возникшие в ходе лечения нежелательные явления (ТЕАЕ)¹
и другие параметры безопасности вплоть до 210 дня*

	Средство РНКи в однократной дозе по сравнению с плацебо				Средство РНКи в двух дозах по сравнению с плацебо			
	Плацебо n = 65	200 мг n = 60	300 мг n = 61	500 мг n = 65	Плацебо n = 62	100 мг n = 61	200 мг n = 62	300 мг n = 61
Любое явление, которое произошло в течение лечения	46 (71)	47 (78)	44 (72)	49 (75)	50 (81)	48 (79)	47 (76)	47 (77)
Серьезное	3 (5)	6 (10)	5 (8)	6 (9)	6 (10)	11 (18)	6 (10)	7 (11)
Тяжелое	2 (3)	2 (3)	4 (7)	5 (8)	7 (11)	5 (8)	6 (10)	8 (13)
Смерть	0	0	0	1 (2) ^a	0	0	1 (2) ^b	0
Реакция в месте инъекции ^c	0	2 (3)	2 (3)	3 (5)	0	3 (5)	5 (8)	4 (7)
Содержание ALT > 3× ULN	0	0	1 (2) ^d	0	0	1 (2)	0	1 (2)
Содержание AST > 3× ULN	1 (2)	0	1 (2) ^d	0	0	0	0	0
Содержание ALP > 2× ULN	0	0	2 (3)	1 (2)	0	2 (3)	0	0
Содержание билирубина > 2× ULN ³	1 (2)	0	0	0	0	1 (2)	0	0
Содержание СК > 5× ULN	1 (2) ^e	0	3 (5) ^f	0	0	0	2 (3) ^g	0
Миазия	3 (5)	2 (3)	5 (8)	3 (5)	3 (5)	7 (11)	5 (8)	5 (8)
Гликированный гемоглобин ^h	-0,2±7,0	-0,1±6,1	-0,1±3,3	0±6,9	0,3±13,7	0,6±10,4	0,5±5,4	-1,0±6,4
Тромбоциты ⁱ	1,7±12,0	4,8±12,6	0,7±12,5	1,4±15,6	5,6±20,3	-0,1±10,9	4,3±17,5	0,7±15,6

* значения плюс-минус представляют собой среднее ±SD. Количество пациентов, завершивших последующее наблюдение до 210 дня в каждой группе, являлось следующим: в когорте, получавшей однократную дозу: 63 пациента в группе плацебо, 60 в группе, получавшей 200 мг средства РНКи, 61 в группе, получавшей 300 мг средства РНКи, и 61 в группе, получавшей 500 мг средства РНКи; в когорте, получавшей две дозы: 60 в группе плацебо, 59 в группе, получавшей 100 мг средства РНКи, 60 в группе, получавшей 200 мг средства РНКи, и 59 в группе, получавшей 300 мг средства РНКи.

^a смерть наступила вследствие инфаркта миокарда,

^b смерть наступила в результате сепсиса и пневмонии после осложнений операции по поводу заболевания аорты,

^c эта категория включала в себя сыпь, эритему и зуд,

^d повышенные содержания ALT и AST наблюдали у одного и того же пациента,

^e содержание креатинкиназы у этого пациента больше чем в 73 раз превышало верхнюю границу нормального диапазона на исходном уровне,

^f один пациент характеризовался содержанием креатинкиназы, которое больше чем в 8 раз превышало верхнюю границу нормального диапазона на исходном уровне,

^g один пациент характеризовался содержанием креатинкиназы, которое больше чем в 4 раза превышало верхнюю границу нормального диапазона на исходном уровне,

^h гликированный гемоглобин измеряли в плазме и оценивали в 180 день,

ⁱ количество тромбоцитов измеряли в цельной крови,

ALP=щелочная аминотрансфераза,

ALT=аланинаминотрансфераза,

AST=аспартатаминотрансфераза,

ULN=верхняя граница нормального диапазона,

СК=креатинкиназа.

Таблица 8. Возникшее в ходе лечения нежелательное явление в месте инъекции^{1,2}
после первой инъекция в 90 день

	Плацебо n = 127	Средство РНКи				
		Объединенные n = 370	100 мг n = 61	200 мг n = 122	300 мг n = 122	500 мг n = 65
Эритема в месте инъекции	0	4 (1,1%)	0	2 (1,6%)	1 (0,8%)	1 (1,5%)
Зуд в месте инъекции	0	1 (0,3%)	0	0	1 (0,8%)	0
Сыпь в месте инъекции	0	0	0	0	0	0
Реакция в месте инъекции	0	7 (1,9%)	1 (1,6%)	1 (0,8%)	3 (2,5%)	2 (3,1%)
Всего (наблюдаемые в любое время)	0	12 (3,2%)	1 (1,6%)	3 (2,5%)	5 (4,1%)	3 (4,6%)
Всего (наблюдаемые > 4 часов)	0	9 (2,4%)	1 (1,6%)	3 (2,5%)	4 (3,3%)	1 (1,5%)

¹ количество пациентов с нежелательным явлением, классифицированных по предпочтительному термину - каждый пациент учитывается только один раз,

² предварительно определенные нежелательные явления гистаминового/аллергического типа.

Таблица 9. Возникшее в ходе лечения нежелательное явление в месте инъекции^{1,2} после двух инъекций с 90 дня по 210 день

	Плацебо n = 60	Средство РНКи			
		Объединенные n = 178	100 мг n = 57	200 мг n = 61	300 мг n = 60
Эритема в месте инъекции	0	1 (0,6%)	0	1 (1,6%)	0
Зуд в месте инъекции	0	4 (2,2%)	1 (1,8%)	3 (4,9%)	0
Сыпь в месте инъекции	0	3 (1,7%)	2 (3,5%)	0	1 (1,7%)
Реакция в месте инъекции	0	2 (1,1%)	0	2 (3,3%)	0
Всего (наблюдаемые в любое время)	1 (1,7%)	13 (7,3%)	4 (7,0%)	3 (4,9%)	6 (10,0%)

¹ количество пациентов с нежелательным явлением, классифицированных по предпочтительному термину - каждый пациент учитывается только один раз,

² предварительно определенные нежелательные явления гистаминового/аллергического типа.

Таблица 10. Антитела к лекарственному средству после двух доз до 210 дня

	Плацебо n = 62	Средство РНКи			
		Средство РНКи всего n = 184	100 мг n = 61	200 мг n = 62	300 мг n = 61
Исходный уровень	0	1 (0,5%)	0	1 (1,6%) ¹	0
90 день	0	1 (0,5%)	0	1 (1,6%) ¹	0
210 день	0	0	0	0	0

¹ "пограничный положительный образец с уже существующими/перекрестно реактивными антителами".

Таблица 11. Возникшие в ходе лечения нежелательные явления (ТЕАЕ) и другие параметры безопасности вплоть до 360 дня

	Средство РНКи в однократной дозе по сравнению с плацебо		Средство РНКи в двух дозах по сравнению с плацебо	
	Плацебо n = 65	Средство РНКи n = 186	Плацебо n = 62	Средство РНКи N=184
Любое ТЕАЕ	51 (78,5%)	155 (81,3%)	51 (82,3%)	153 (83,2%)
Серьезное ТЕАЕ	3 (4,6%)	30 (16,1%)	7 (11,3%)	31 (16,8%)
Тяжелое ТЕАЕ	2 (3,1%)	18 (9,7%)	7 (11,3%)	22 (12,0%)
Связанное ТЕАЕ	12 (18,5%)	39 (21,0%)	19 (30,6%)	52 (28,3%)
Прекращение участия в испытании из-за нежелательного явления	0	0	1 (1,6%)	1 (0,5%)
Реакция в месте инъекции	0	7 (3,8%)	0	12 (6,5%)

начальная схема приема одной дозы: ринофарингит, миалгия, боль в спине, кашель, артралгия, головная боль,

начальная схема приема двух доз: миалгия, головная боль, диарея, ринофарингит, артралгия, боль в спине.

Таким образом, подробно описав варианты осуществления настоящего изобретения, следует понимать, что настоящее изобретение, определенное вышеупомянутыми абзацами, не должно быть ограничено конкретными деталями, изложенными в вышеприведенном описании, так как многие его очевидные варианты возможны без отклонения от сущности или объема настоящего изобретения.

Перечень последовательностей.

SEQ ID NO: 1

5'- ACAAAAGCAAAACAGGUCUAGAA -3'

SEQ ID NO: 2

5'- CUAGACCUGUTUUGCUUUUGU -3'

SEQ ID NO: 3

5'- asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa -3', где a, g, c и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) A, G, C или U; Af, Gf, Cf или Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C или U; dT представляет собой 2'-дезокситимидин; и s представляет собой тиофосфатную связь

SEQ ID NO: 4

5'- csusagacCfuGfudTuugcuuuugu -3', где a, g, c и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) A, G, C или U; Af, Gf, Cf или Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C или U; dT представляет собой 2'-дезокситимидин; и s представляет собой тиофосфатную связь

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания (ASCVD), эквивалента риска ASCVD, повышенного риска в отношении сердечно-сосудистого заболевания (CVD), гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии, гомозиготной семейной гиперхолестеринемии или их комбинации, посредством снижения содержания холестерина липопротеинов низкой плотности у субъекта, где способ включает введение субъекту средства интерферирующей рибонуклеиновой кислоты (РНКи),

где средство РНКи включает двухцепочечную рибонуклеиновую кислоту, содержащую смысловую цепь и антисмысловую цепь, которая образует двухцепочечную область, причем антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 3, и смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 4,

где средство двухцепочечной РНКи конъюгировано с лигандом N-ацетилгалактозамина (GalNAc)₃,

где средство РНКи вводят в режиме дозирования, который включает насыщающую фазу, за которой следует поддерживающая фаза,

где насыщающая фаза включает введение средства РНКи в виде по меньшей мере двух доз, разделенных интервалом времени, при этом интервал времени составляет от 60 до 120 дней,

где поддерживающая фаза включает введение средства РНКи в виде одной или нескольких доз, и

где каждая доза, вводимая в насыщающей фазе и поддерживающей фазе, представляет собой фиксированную дозу.

2. Способ предотвращения сердечно-сосудистого события, снижения смертности и/или заболеваемости сердечно-сосудистыми заболеваниями или предотвращения развития ASCVD у субъекта, предусматривающий введение субъекту средства интерферирующей рибонуклеиновой кислоты (РНКи),

причем средство РНКи включает двухцепочечную рибонуклеиновую кислоту, содержащую смысловую цепь и антисмысловую цепь, которая образует двухцепочечную область, причем антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 3, и смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 4,

где средство двухцепочечной РНКи конъюгировано с лигандом N-ацетилгалактозамина (GalNAc)₃,

где средство РНКи вводят в режиме дозирования, который включает насыщающую фазу, за которой следует поддерживающая фаза,

где насыщающая фаза включает введение средства РНКи в виде по меньшей мере двух доз, разделенных интервалом времени, при этом интервал времени составляет от 60 до 120 дней,

где поддерживающая фаза включает введение средства РНКи в виде одной или нескольких доз, и

где каждая доза, вводимая в насыщающей фазе и поддерживающей фазе, представляет собой фиксированную дозу.

3. Способ по п.1 или 2, при котором субъект характеризуется наличием атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания (ASCVD), эквивалента риска ASCVD, повышенного риска в отношении сердечно-сосудистого заболевания, гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии или гомозиготной семейной гиперхолестеринемии или нуждается в снижении содержания ХС-ЛПНП или характеризуется их комбинацией.

4. Способ по любому из пп.1-3, при котором субъект характеризуется исходным содержанием липопротеина низкой плотности (ХС-ЛПНП), составляющим приблизительно 70 мг/дл или больше.

5. Способ по любому из пп.1-4, при котором субъект проходит лечение с помощью фоновой гиполлипидемической терапии.

6. Способ по п.5, при котором фоновую гиполлипидемическую терапию выбирают из статина, эзетимиба и афереза ЛПНП.

7. Способ по любому из пп.5-6, при котором фоновую гиполлипидемическую терапию продолжают пока субъекту вводят средство РНКи.

8. Способ по любому из пп.1-7, при котором введение средства РНКи снижает содержание ХС-ЛПНП больше чем приблизительно на 20% по сравнению с исходным содержанием ХС-ЛПНП.

9. Способ по одному из пп.1-8, при котором снижение содержания ХС-ЛПНП, превышающее приблизительно 20% по сравнению с исходным содержанием, поддерживается в течение 15 дней или более после введения средства РНКи.

10. Способ по любому из пп.1-9, при котором введение средства РНКи снижает содержание PCSK9 больше чем приблизительно на 25% по сравнению с исходным содержанием PCSK9, причем исходное содержание PCSK9 измеряют перед введением средства РНКи.

11. Способ по любому из пп.1-10, при котором снижение содержания PCSK9, превышающее приблизительно 25% по сравнению с исходным содержанием, поддерживается в течение 30 дней или более после введения средства РНКи.

12. Способ по п.1 или 2, в котором интервал времени составляет приблизительно 90 дней.

13. Способ по п.1 или 2, в котором фиксированная доза содержит от приблизительно 100 до приблизительно 500 мг средства РНКи.

14. Способ по п.1 или 2, в котором фиксированная доза содержит приблизительно 300 мг средства РНКи.

15. Способ по любому из пп.12-14, в котором поддерживающая фаза предусматривает введение средства РНКи в виде по меньшей мере двух доз, разделенных интервалом времени.

16. Способ по п.15, в котором интервал времени составляет от приблизительно 3 до приблизительно 9 месяцев.

17. Способ по п.15 или 16, в котором интервал времени составляет приблизительно 6 месяцев.

18. Способ по п.1 или 2, в котором фиксированная доза содержит приблизительно от 275 до приблизительно 325 мг средства РНКи.

19. Способ по любому из пп.1-18, в котором средство РНКи вводят в режиме дозирования, который включает (1) насыщающую фазу, где средство РНКи вводят в дозе 300 мг в день 1 и примерно на 90-й день; и (2) поддерживающая фаза, где средство РНКи вводят в дозе 300 мг каждые примерно шесть месяцев после введения примерно на 90-й день.

20. Способ по любому из пп.1-19, в котором средство РНКи вводят в виде подкожной инъекции.

21. Способ по любому из пп.1-20, в котором лиганд N-ацетилгалактозамина (GalNAc)₃ конъюгирован с 3' концом смысловой цепи двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты.

22. Способ по любому из пп.1-21, в котором SEQ ID NO: 3 представляет собой 5'-asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa-3', и SEQ ID NO: 4 представляет собой 5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuugu-3', где a, g, с представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) A, G, C и U соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U соответственно; dT представляет собой 2'-дезокситимидин; и s представляет собой тиофосфатную связь.

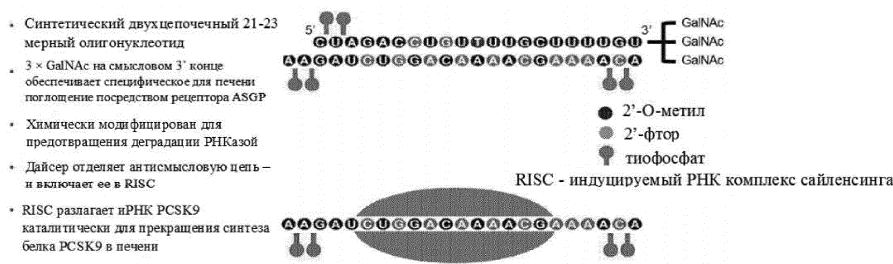
23. Способ по любому из пп.21-22, в котором средство РНКи представлено на следующей схеме



24. Способ по любому из пп.1-23, в котором средство РНКи составлено в подходящей фармацевтической композиции с концентрацией примерно 200 мг/мл, так что введение примерно 1,5 мл композиции субъекту обеспечивает фиксированную дозу 300 мг средства РНКи.

25. Способ по любому из пп.2-24, отличающийся тем, что сердечно-сосудистое событие выбрано из смерти от сердечно-сосудистых заболеваний, нефатального инфаркта миокарда, тяжелой рецидивирующей ишемии, инсульта, симптоматической эмболии сосудов легких и коронарной реваскуляризации.

26. Способ по любому из пп.1-25, отличающийся тем, что субъект имеет один или несколько факторов риска, выбранных из группы, состоящей из острых коронарных синдромов; наличие в анамнезе инфаркта миокарда, стабильной или нестабильной стенокардии, коронарной или другой артериальной реваскуляризации, инсульта, транзиторной ишемической атаки или заболевания периферических артерий атеросклеротического происхождения; мужской пол; наличие в семейном анамнезе заболевания сердца, ASCVD или эквивалента риска ASCVD; наличие привычки курить; отсутствие физической активности; наличие высокого кровяного давления; наличие высокого содержания холестерина в крови; наличие сахарного диабета или преддиабета; наличие избыточной массы тела или ожирения; наличие в анамнезе преэклампсии во время беременности; наличие неконтролируемого стресса и/или гнева; постменопауза; наличие нездоровой диеты; возраст 55 лет или старше; наличие апноэ во сне; и наличие анемии.

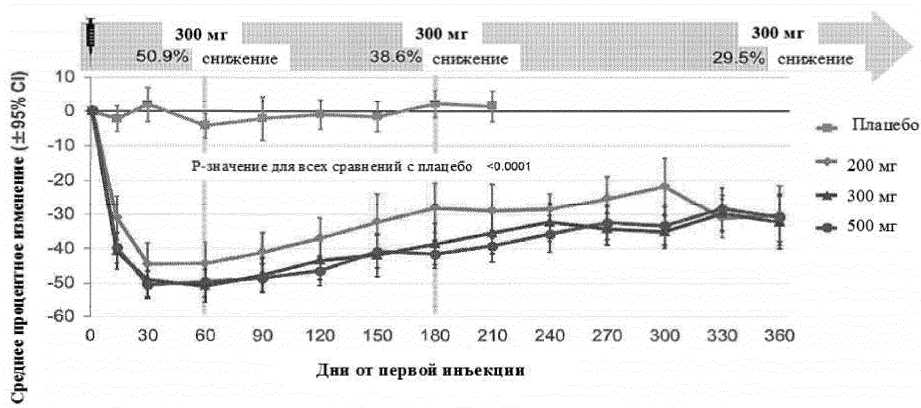


Фиг. 1

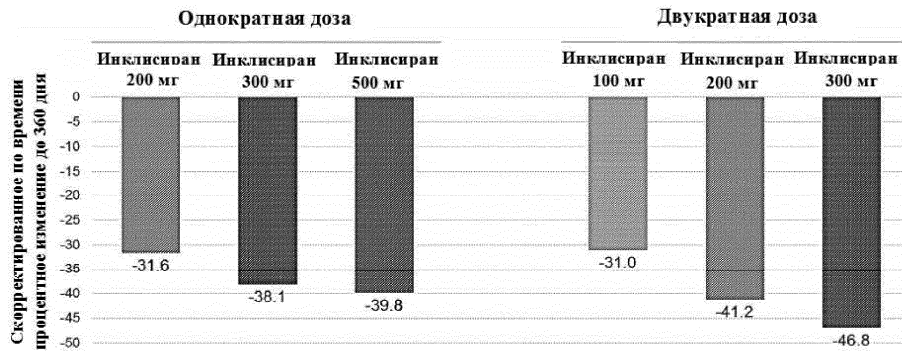
День исследования

Доза (№)	1	14	30	60	90	104	120	150	180	210	240
Оценка	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Одна доза	⊕										
Плацебо (65)											
200 мг (60)											
300 мг (62)											
500 мг (66)											
Две дозы	⊕				⊕						
Плацебо (62)											
100 мг (62)											
200 мг (63)											
300 мг (61)											

Фиг. 2



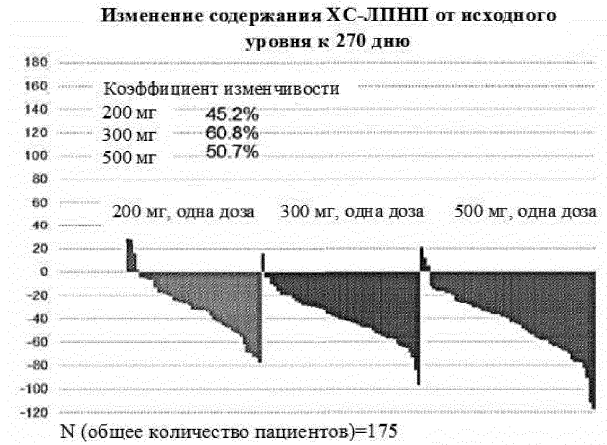
Фиг. 3



Фиг. 4



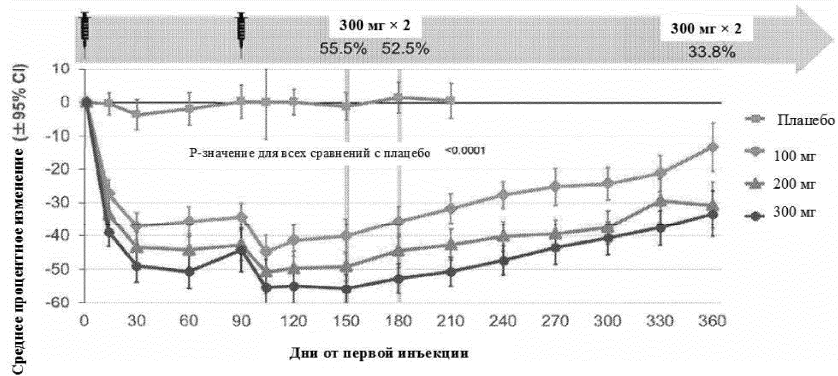
Фиг. 5



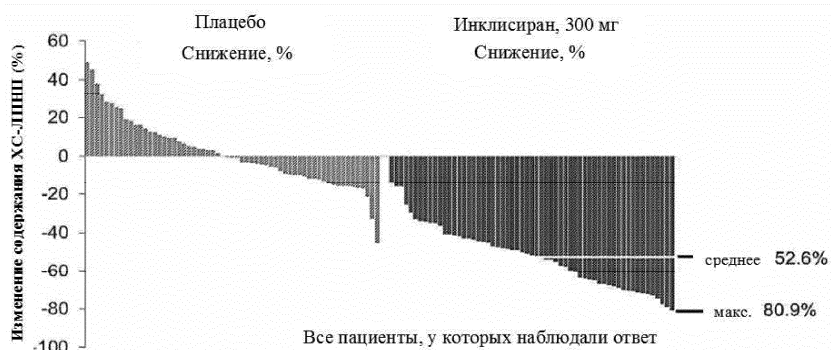
Фиг. 6А



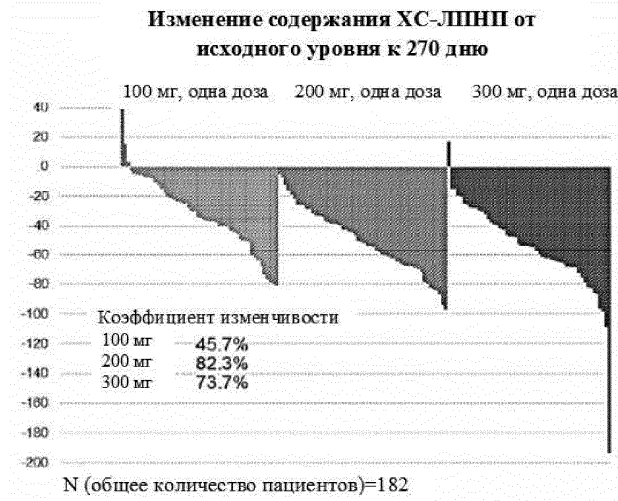
Фиг. 6В



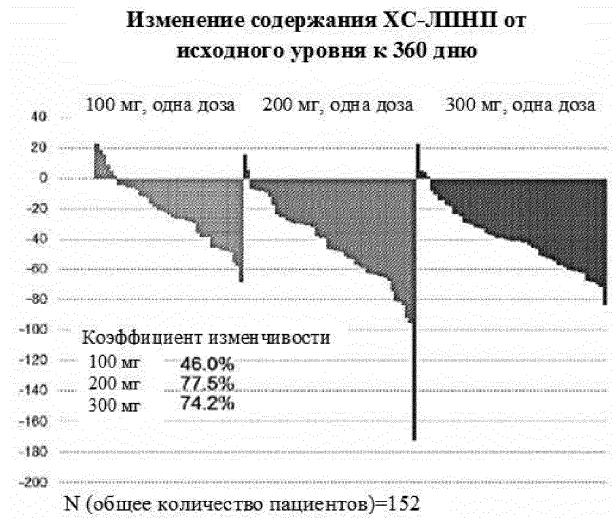
Фиг. 7



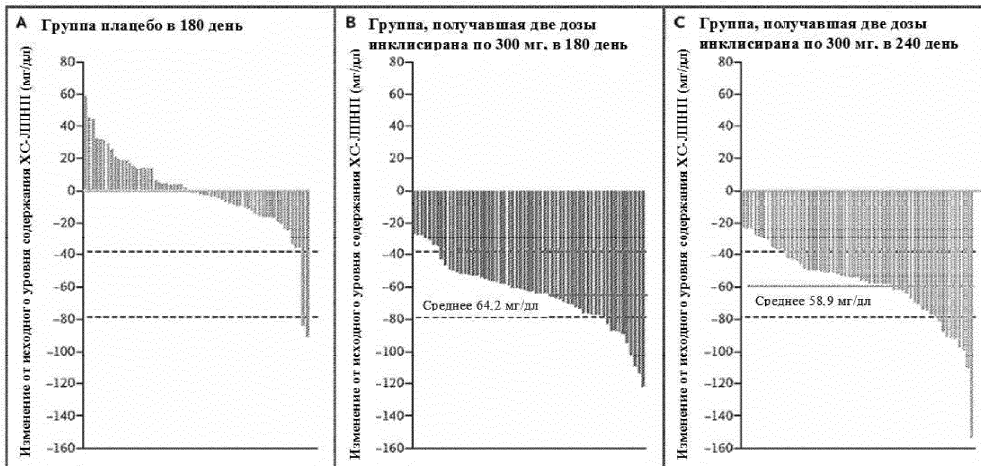
Фиг. 8



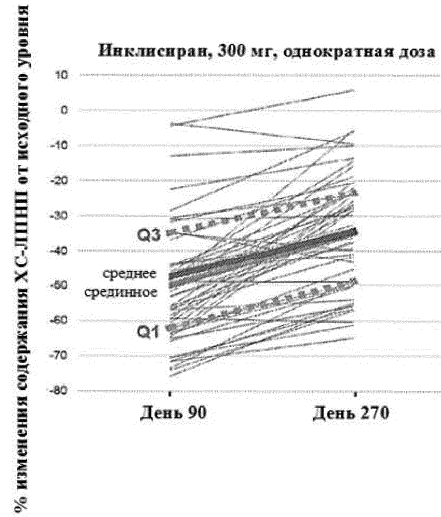
Фиг. 9А



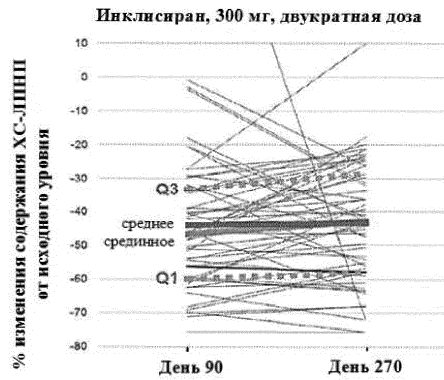
Фиг. 9В



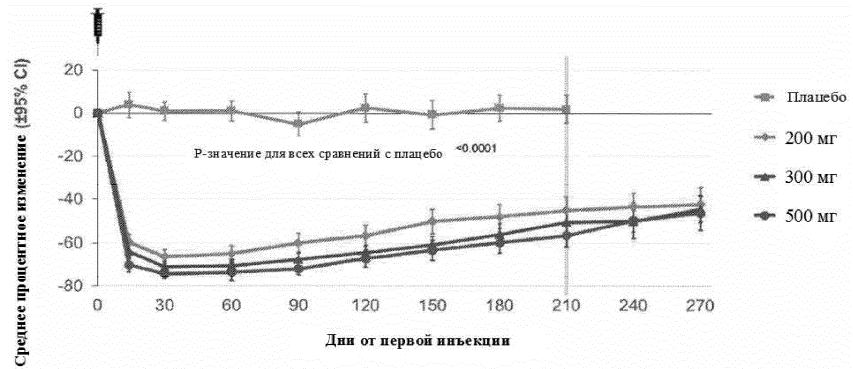
Фиг. 10А-С



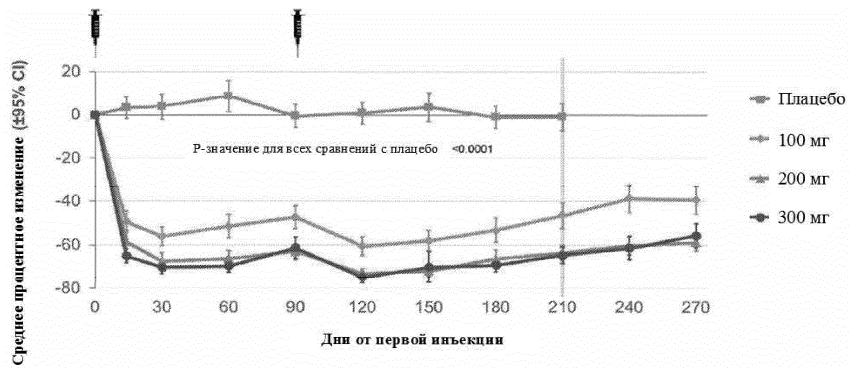
Фиг. 11А



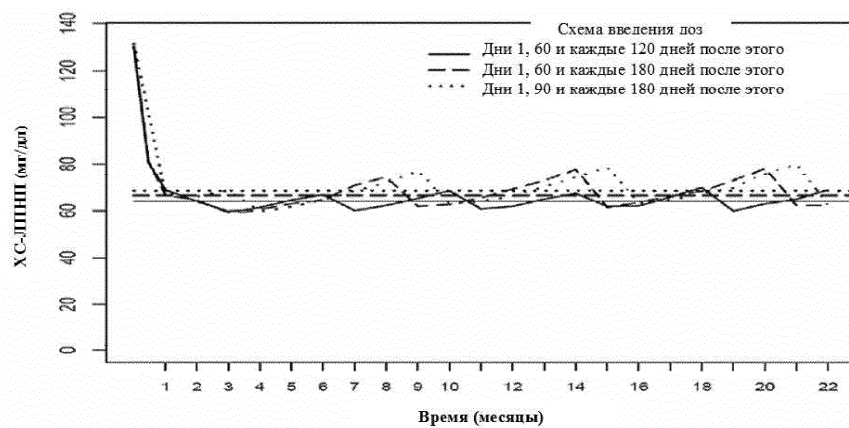
Фиг. 11В



Фиг. 12



Фиг. 13



Фиг. 14

