

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202391625** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.09.27

(51) Int. Cl. *A61K 51/08* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.12.03

(54) **СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ АМИЛОИДОЗОВ**

(31) 63/121,779

(72) Изобретатель:

(32) 2020.12.04

Уолл Джонатан С., Хайдель Роберт

(33) US

Эрик (US)

(86) PCT/US2021/072729

(87) WO 2022/120378 2022.06.09

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(71) Заявитель:

**ЮНИВЕРСИТИ ОФ ТЕННЕССИ
РИСЕРЧ ФАУНДЕЙШН (US)**

(57) В изобретении предложены способы выявления и диагностики типов амилоидных дистрофий. Также в данном документе предложены способы лечения, включающие выбор лечения на основе конкретного типа амилоидоза.

202391625
A1

202391625

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-578184EA/085

СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ АМИЛОИДОВ

ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке на патент США с № 63/121779, поданной 04 декабря 2020 г., содержание которой полностью включено в данный документ посредством ссылки.

ПОДАЧА ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В ТЕКСТОВОМ ФАЙЛЕ ASCII

Содержание поданного в текстовом файле ASCII полностью включено в данный документ посредством ссылки: машиночитаемая форма (CRF) перечня последовательностей (имя файла: 165992000440SEQLIST.TXT, дата записи: 29 ноября 2021 г., размер: 7103 байт).

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к способам выявления и диагностики типов амилоидных дистрофий.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Амилоидоз - летальное нарушение сворачивания белков, которое характеризуется агрегацией и отложением белковых фибрилл и гепарансульфатпротеогликана в жизненно важных органах и тканях (Merlini, G. et al. (2003) *N. Engl. J. Med.* 349, 583-596; Merlini, G. et al. (2004) *J. Intern. Med.* 255, 159-178; De Lorenzi, E. et al. (2004) *Curr. Med. Chem.* 11, 1065-1084; Merlini, G. (2004) *Neth. J. Med.* 62, 104-105). Непрерывающееся накопление амилоида неизменно приводит к дисфункции органов и тяжелой заболеваемости или смерти. Отложения могут быть церебральными, как у пациентов с болезнью Альцгеймера, болезнью Гентингтона или с прионными заболеваниями, или периферическими, как у пациентов с амилоидозом легких цепей (AL) и диабетом 2 типа. Дальнейшее разделение на локализованную или системную подгруппы указывает, вырабатывается ли белок-предшественник локально (в месте отложения) или циркулирует в кровотоке и откладывается в отдаленных анатомических зонах, соответственно, (Westermarck, P. et al. (2007) *Amyloid.* 14, 179-183). Амилоид может поражать любой орган или ткань, но почки, поджелудочная железа, печень, селезенка, нервная ткань и сердце являются основными местами отложения у пациентов с семейными или спорадическими формами периферического амилоидоза. Болезнь Альцгеймера в настоящее время поражает более 4 миллионов американцев, и, по оценкам, к 2050 году эта цифра увеличится до более чем 16 миллионов. Это, безусловно, самая распространенная форма амилоидоза, которая оказывает наибольшее социально-экономическое влияние. Напротив, периферический амилоидоз является орфанным заболеванием, но только в США ежегодно регистрируется более 5000 новых пациентов.

Из них основным периферическим амилоидозом является AL, спорадическая дискразия моноклональных плазматических клеток, приводящая к отложению фибрилл, состоящих из белков легкой цепи иммуноглобулина. На AL приходится примерно две трети

всех случаев периферического амилоидоза, и его расчетная заболеваемость составляет ~ 1,4 на 100000 человек в год в США, что сравнимо с частотой острого лимфоцитарного и хронического миелоидного лейкоза (Group, U. S. C. S. W. (2007) United States Cancer Статистика: веб-отчет о заболеваемости и смертности за 1999-2003 гг., Министерство здравоохранения США и Центры социальных служб по контролю и профилактике заболеваний, Национальный институт рака, Атланта). Хотя AL встречается в пять раз реже, чем связанная с ней дискразия плазматических клеток, множественная миелома, она, возможно, является более разрушительной со средней выживаемостью всего 13,2 месяца, отчасти из-за быстро прогрессирующего характера разрушения органов, отсутствия эффективных антиамилоидных препаратов и неспособности эффективно диагностировать заболевание до возникновения органной недостаточности. Менее 5% всех пациентов с AL проживают 10 и более лет с момента постановки диагноза (Comenzo, R. L. et al. (2002) Blood 99, 4276-4282). Более того, у пациентов с AL-амилоидозом сердца медиана выживаемости составляет менее 5 мес. К сожалению, эффективной мышиной модели болезни AL не создано.

ATTR является формой системного амилоидоза. 25% пациентов с ATTR-амилоидозом умирают в течение 24 месяцев после постановки диагноза. (Gertz and Dispenzieri JAMA 324(1)79-89 (2002).) Современные методы лечения не предотвращают повреждение органов. ATTR-амилоидоз вызывается фибриллами на основе транстиретина (TTR). Транстиретин представляет собой белок, вырабатываемый печенью, который помогает переносить гормон щитовидной железы и витамин А в кровь. Обычно TTR представляет собой тетрамер, состоящий из 4 одноцепочечных мономеров. Считается, что при наследственном ATTR-амилоидозе мутации гена TTR дестабилизируют белок и вызывают диссоциацию тетрамера на мономеры, которые агрегируют в амилоидные фибриллы. При ATTR-амилоидозе дикого типа нормальный белок TTR становится нестабильным, неправильно сворачивается и образует амилоидные фибриллы.

LECT2-амилоидоз (ALECT2) представляет еще одну распространенную форму амилоидоза, вызываемую белком LECT2. Нарушение, как правило, проявляется заболеванием почек, которое обычно прогрессирует или находится на терминальной стадии. Сопутствующие проявления и симптомы заболевания почек могут включать утомляемость, обезвоживание, кровь в моче и/или другие признаки наличия нефротического синдрома или почечной недостаточности. LECT2-амилоидоз вызывает серьезное заболевание почек у пожилых людей. Было высказано предположение, что у людей с этим заболеванием наблюдается увеличение продукции LECT2 и/или снижение катаболизма LECT2. Хотя мутации в гене LECT2 были идентифицированы, ни одна мутация не была связана с ALECT2.

В дополнение к нарушениям, при которых этиопатология амилоида хорошо установлена, фибриллярные отложения со структурными и тинкториальными свойствами амилоида были идентифицированы при других синдромах, хотя их связь с болезненным состоянием еще предстоит установить. Например, при диабете 2 типа островковый белок-

предшественник амилоида (IAPP) откладывается в виде амилоида в островках Лангерганса (Jaikaran, E. T. et al. (2001) *Biochim. Biophys. Acta* 1537, 179-203). Агрегация IAPP приводит к образованию олигомерных структур, токсичных для клеток поджелудочной железы (Lin, C. Y. et al. (2007) *Diabetes* 56, 1324-1332). Таким образом, предполагается, что образование амилоида IAPP у больных сахарным диабетом 1 типа способствует разрушению β -клеток и способствует переходу к инсулинозависимости (Jaikaran, E. T. et al. (2001) *Biochim. Biophys. Acta* 1537, 179-203). В другом примере бляшки, содержащие амилоидные фибриллы, состоящие из аполипопротеина А-I, были идентифицированы более чем у половины пациентов с атеросклерозом сонных артерий (Westermarck, P. et al. (1995) *Am. J. Pathol.* 147, 1186-1192; Mucchiano, G. I. et al. (2001) *J. Pathol.* 193, 270-275). Отложение этих фибрилл чаще встречается у пожилых пациентов, но apoA-I, несомненно, присутствует на ранних стадиях развития бляшек (Vollmer, E. et al. (1991) *Virchows Arch. A. Pathol. Anat. Histopathol.* 419, 79-88). В качестве последнего примера, амилоид Апо-А-I также был недавно идентифицирован в менисках коленного сустава, полученных от пациентов, перенесших операцию по замене коленного сустава, и он может способствовать физическому износу сустава (Solomon, A. et al. (2006) *Arthritis Rheum.* 54, 3545-3550).

В общей сложности, более 25 белков были идентифицированы химическим или серологическим путем как составляющие фибрилл в амилоидных отложениях. Именно природа этих белков позволяет дифференцировать заболевания, определять лечение и прогноз. Хотя амилоидные фибриллы связаны с клинически гетерогенной группой заболеваний и могут образовываться из структурно различных и функционально различных белков-предшественников, сами отложения обладают рядом удивительно схожих характеристик, включая структуру фибрилл, эпитопы фибрилл и накопление сходных вспомогательных молекул, включая гепарансульфат протеогликаны (ГСПГ). Амилоид представляет собой гетерогенный комплекс, включающий, помимо фибрилл, гликозаминогликаны (GAG) и, в частности, ГСПГ перлекана (Ancsin, J. B. (2003) *Amyloid* 10, 67-79; Ailles, L. et al. (1993) *Lab. Invest.* 69, 443-448; Kisilevsky, R. (1994) *Mol. Neurobiol.* 9, 23-24; Kisilevsky, R. (1990) *Lab. Invest.* 63, 589-591; Snow, A. D. et al. (1987) *Lab. Invest.* 56, 120-123; Li, J. P. et al. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 6473-6477).

При различных типах системного амилоидоза амилоидные отложения могут возникать во многих органах, таких как почки, поджелудочная железа, печень, селезенка, сердце и нервная ткань, что затрудняет дифференциацию различных типов амилоидоза друг от друга. В то же время разрабатываются многообещающие виды терапии, которые направлены на устранение конкретных типов амилоидов. Таким образом, существует потребность в способах диагностики и дифференциации амилоидных дистрофий друг от друга.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В данном документе представлены способы диагностики типа амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения. В некоторых вариантах осуществления способ

включает определение профиля распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в одном или более органах. В некоторых вариантах осуществления профиль распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения указывает на тип амилоидоза.

Также в данном документе предложен способ лечения амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения. В некоторых вариантах осуществления способ включает определение профиля распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в одном или более органах, при этом профиль распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения указывает на тип амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления способ включает выбор лечения в зависимости от типа амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления способ включает проведение лечения индивидууму.

Также в данном документе предложен способ диагностики типа амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления способ включает получение данных о профиле распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления способ включает расчет отношения органа к органу для двух или более органов, где отношение органа к органу используется для диагностики типа амилоидоза.

В некоторых вариантах осуществления тип амилоидоза включает системный амилоидоз. В некоторых вариантах осуществления тип амилоидоза выбран из группы, состоящей из амилоидоза легкой цепи (AL), транстиретин-ассоциированного амилоидоза (ATTR) и ALCT2.

В некоторых вариантах осуществления орган выбран из группы, состоящей из сердца, селезенки, почки и печени.

В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент представляет собой реактивный к амилоиду пептид, который помечен обнаруживаемой меткой. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду пептид включает аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 13 или SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент реагирует с A β фибриллами. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент выбран из группы, состоящей из флорбетапира, флорбетабена и флутеметамола.

В некоторых вариантах осуществления красителем для обнаружения является ThT. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент взаимодействует с синтетическими фибриллами, состоящими из легких цепей или их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления профиль распределения по органам определяют с использованием изображений ПЭТ/КТ. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент метят радиоактивным изотопом.

В некоторых вариантах осуществления рассчитывают отношение органа к крови для

реактивного к амилоиду агента или красителя. В некоторых вариантах осуществления рассчитывают отношение органа к органу для реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения. В некоторых вариантах осуществления отношение органа к органу выбрано из группы, состоящей из печени к сердцу, селезенки к сердцу, селезенки к печени, селезенки к почке, почки к сердцу и почки к печени. В некоторых вариантах осуществления рассчитывают отношение сердца к селезенке. В некоторых вариантах осуществления, если отношение сердца к селезенке превышает 1,4, у индивидуума диагностируют АТТТ-амилоидоз.

Также в данном документе предложен набор для диагностики типа амилоидоза, включающий реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения и инструкции по применению. В некоторых вариантах осуществления набор предназначен для обнаружения или диагностики системного амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления набор предназначен для обнаружения или диагностики амилоидоза легкой цепи (AL), транстиретин-ассоциированного амилоидоза (АТТТ) или АLECT2.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит реактивный к амилоиду пептид, который помечен обнаруживаемой меткой. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду пептид включает аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 13 или SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент реагирует с А β фибриллами. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент взаимодействует с синтетическими фибриллами, состоящими из легких цепей или их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит реактивных к амилоиду реагент, выбранный из группы, состоящей из флорбетапира, флорбетабена и флутеметамола.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит краситель для обнаружения ТhТ.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит инструкции по определению профиля распределения по органам.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит реактивный к амилоиду агент, который помечен радиоактивным изотопом.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит инструкции по расчету отношения органа к крови для реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит инструкции по расчету отношения органа к органу для реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения. В некоторых вариантах осуществления отношение органа к органу представляет собой печень к сердцу, селезенку к сердцу, селезенку к печени, селезенку к почке, почку к сердцу или почку к печени.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит инструкции по диагностике АТТТ-амилоидоза, если отношение сердца к селезенке превышает 1,4.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит инструкции по проведению лечения индивидууму на основании диагноза.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит терапевтический агент для устранения определенного типа амилоида.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На Фиг. 1 показан неполный список амилоидозов и амилоидных дистрофий.

На Фиг. 2А показано отношение орган:пул крови для амилоидоза легкой цепи (AL) (n=14). **На Фиг. 2В** показано отношение орган:пул крови для транстиретин-ассоциированного (ATTR) амилоидоза (n=7). **На Фиг. 2С** показано отношение орган:пул крови для пациентов с ассоциированным с лейкоцитарным хемотаксическим фактором 2 (ALECT2) амилоидозом (n=2). Отношение орган:кровь рассчитывали на основе анализа представляющей интерес области (ROI) сердца, печени, селезенки и левой почки.

На Фиг. 3 показаны средние отношения орган:пул крови для пациентов с AL, ATTR и ALECT2, рассчитанные с помощью анализа ROI сердца, печени, селезенки и левой почки.

На Фиг. 4А показаны сводные данные по отношениям орган:пул крови для пациентов с AL после удаления выпадающих точек данных. **На Фиг. 4В** показаны сводные данные по отношениям орган:пул крови для пациентов с ATTR после удаления выпадающих точек данных. **На Фиг. 4С** показаны сводные данные по отношениям орган:пул крови для пациентов с ALECT2 после удаления выпадающих точек данных.

На Фиг. 5 показаны средние отношения орган:пул крови для пациентов с AL, ATTR и ALECT2 после удаления выпадающих точек данных.

На Фиг. 6 показан анализ зависимости чувствительности от частоты ложноположительных заключений (ROC), выполненный с использованием значений стандартного отношения показателей поглощения (SUVR) для одного органа для ATTR. Кривая ROC показана для сердца.

На Фиг. 7А-7С показан анализ зависимости чувствительности от частоты ложноположительных заключений (ROC), выполненный с использованием значений стандартного отношения показателей поглощения (SUVR) для одного органа для AL. **На Фиг. 7А, 7В и 7С** показаны ROC-кривые для печени, селезенки и почек, соответственно. Диагональные сегменты образуются при помощи стяжек.

На Фиг. 8А-8F показан анализ зависимости чувствительности от частоты ложноположительных заключений (ROC) для обнаружения ATTR-амилоидоза. ROC-кривые были созданы с применением отношений поглощения органами для ATTR-амилоидоза. **На Фиг. 8А** показан анализ отношения сердце/селезенка. **На Фиг. 8В** показан анализ отношения сердце/печень. **На Фиг. 8С** показан анализ отношения сердце/почка. **На Фиг. 8D** показан анализ отношения печень/селезенка. **На Фиг. 8Е** показан анализ отношения печень/почка. **На Фиг. 8F** показан анализ отношения почка/селезенка.

На Фиг. 9А-9F показан анализ зависимости чувствительности от частоты ложноположительных заключений (ROC) для обнаружения AL. ROC-кривые были созданы с использованием отношения органа к органу по поглощению для AL. **На Фиг. 9А** показан

анализ отношения печень/сердце. **На Фиг. 9В** показан анализ отношения селезенка/сердце. **На Фиг. 9С** показан анализ отношения селезенка/печень. **На Фиг. 9D** показан анализ отношения селезенка/почки. **На Фиг. 9Е** показан анализ отношения почки/сердце. **На Фиг. 9F** показан анализ отношения почки/печень.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В данном документе предложены способы диагностики и лечения амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения. В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают определение профиля распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя в органах в одном или более органах. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в данном документе, способны различать различные типы системного амилоидоза, такие как AL, ATTR и ALECT2, на основе профиля распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения. В некоторых вариантах осуществления способ включает постановку диагноза типа амилоидоза на основе профиля распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает выбор терапии в зависимости от типа амилоидоза.

В контексте данного документа термин «аминокислота» или «аминокислотный остаток» относится к любой природной аминокислоте, любой неприродной аминокислоте, любой модифицированной, включая дериватизированную аминокислоту, или любому миметику аминокислоты, известному в данной области техники. Аминокислота может обозначаться как обычной трехбуквенной аббревиатурой, так и однобуквенной аббревиатурой.

Термины «амилоиды», «амилоидные отложения», «амилоидные фибриллы» и «амилоидные волокна» относятся к нерастворимым волокнистым белковым агрегатам, имеющим общие структурные особенности. Агрегаты белков имеют третичную структуру, например, которая образуется путем агрегации любого из нескольких различных белков и состоит из упорядоченного расположения β -складок, уложенных друг на друга перпендикулярно оси волокна. См. Sunde *et al.*, J. Mol. Biol. (1997) 273:729-39. Аномальное накопление амилоидов в органах может привести к амилоидозу. Хотя они разнообразны по своему происхождению, все амилоиды имеют общие морфологические свойства, заключающиеся в том, что они окрашиваются определенными красителями, такими как Конго красный, и после окрашивания имеют характерный красно-зеленый двулучепреломляющий вид в поляризованном свете. Амилоиды также имеют общие ультраструктурные особенности и общие рентгеновские и инфракрасные спектры.

Амилоидоз относится к патологическому состоянию или заболеванию, характеризующемуся наличием амилоидов, например, наличием амилоидных отложений. «Амилоидные дистрофии» или «амилоидоз» представляют собой заболевания, связанные с образованием, отложением, накоплением или сохранением амилоидных фибрилл. Такие заболевания включают, но не ограничиваются ими, болезнь Альцгеймера, синдром Дауна,

наследственную предрасположенность к кровоизлиянию в мозг с амилоидозом голландского типа и церебральную бета-амилоидную ангиопатию. Другие амилоидные дистрофии, такие как системный AA-амилоидоз, AL-амилоидоз, ATTR-амилоидоз, ALECT2-амилоидоз и IAPP-амилоидоз диабета II типа, также являются амилоидными дистрофиями.

В контексте данного документа термин «носители» включает фармацевтически приемлемые носители, эксципиенты или стабилизаторы, которые нетоксичны для клетки, ткани, млекопитающего или субъекта, подвергающегося их воздействию в используемых дозировках и концентрациях. Часто фармацевтически приемлемый носитель представляет собой водный pH-буферный раствор. Примеры фармацевтически приемлемых носителей включают, но не ограничиваясь ими, буферы, такие как фосфатный, цитратный, и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту; низкомолекулярные (менее чем около 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА; сахарные спирты, такие как маннит или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как Tween®, полиэтиленгликоль (ПЭГ) и Pluronic®.

В контексте данного документа термин «эффективное количество» или «подходящее количество» представляет собой количество, достаточное для достижения полезных или желаемых клинических или биохимических результатов. Эффективное количество можно вводить один или более раз. Для целей настоящего изобретения эффективное количество реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения представляет собой количество, достаточное для связывания и обеспечения возможности обнаружения амилоидов.

В контексте данного документа термин «визуализирующий агент» или «контрастный агент», которые могут использоваться взаимозаменяемо, относится к любому агенту, который может быть использован в связи со методами визуализации внутренней области у субъекта и/или диагностики наличия или отсутствия заболевания у субъекта путем применения и/или обнаружения источника энергии. Примеры визуализирующих агентов включают контрастные агенты для применения в связи с ультразвуковой, магнитно-резонансной томографией, радионуклидной визуализацией или рентгеновской (включая компьютерную томографию) визуализацией пациента, а также композиции, описанные в данном документе.

В контексте данного документа термин «млекопитающее» для целей настоящего изобретения относится к любому животному, классифицируемому как млекопитающее, включая человека, домашних и сельскохозяйственных животных, а также животных из зоопарка, спортивных или домашних животных, таких как собаки, кошки, крупный рогатый

скот, лошади, овцы, свиньи и так далее. В некоторых вариантах осуществления млекопитающее представляет собой человека.

В контексте данного документа термин «пептид» относится к любой пептидной или пептидомиметической структуре, содержащей или состоящей из двух или более аминокислот, включая химические модификации и производные аминокислот.

В контексте данного документа термин «очищенная» или «выделенная» молекула относится к биологическим или синтетическим молекулам, которые удалены из их естественной среды, выделены или отделены и свободны от других компонентов, с которыми они связаны в природе.

В контексте данного документа термин «специфически связывает» относится к реакции неслучайного связывания между двумя молекулами, например, между реактивным к амилоиду агентом или красителем для обнаружения и амилоидом. Термин «специфически связывает» может использоваться взаимозаменяемо с терминами «селективно нацеливается» или «селективно связывается».

В контексте данного документа термин «селективно нацеливается» или «селективно связывает» в отношении амилоидов относится, например, к селективной локализации или связыванию между реактивным к амилоиду агентом или красителем для обнаружения и амилоидом по сравнению с неамилоидным белком. Реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения могут селективно воздействовать на несколько типов амилоида.

В контексте данного документа термин «субъект» относится к позвоночному. Позвоночное может быть млекопитающим, например, человеком. Субъект может представлять собой пациент-человек.

В контексте данного документа термин «реактивный к амилоиду агент» представляет собой агент, который специфически реагирует с амилоидом или связывается с ним.

I. Способы диагностики

В некоторых аспектах настоящего изобретения предложены способы диагностики амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления способы диагностики типа амилоидоза включают введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения и определения профиля распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя в одном или более органах. В других вариантах осуществления способы диагностики типа амилоидоза включают введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения и измерения отношения органа к органу реактивного к амилоиду агента или красителя в одном или более органах. В некоторых вариантах осуществления профиль распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя или отношение органа к органу указывает на тип амилоидоза.

В некоторых вариантах осуществления способы диагностики типа амилоидоза включают введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения, содержащего реактивный к амилоиду пептид. В некоторых вариантах осуществления

реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения включают пептид, слитый белок, низкомолекулярное соединение или антитело или его фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления способы диагностики типа амилоидоза включают введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения, содержащего реактивный к амилоиду пептид. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду пептид включает аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90% или более идентичности с аминокислотной последовательностью, указанной в виде любой из SEQ ID NO: 1-14, такой как по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью, указанной в любой из SEQ ID NO: 1-14. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду пептид, используемые в способах, описанных в данном документе, содержат от около 10 до 55 аминокислот или состоят из них. Реактивные к амилоиду пептиды по настоящему изобретению могут, например, включать или состоять из 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, или 55 аминокислот. Такие пептиды описаны, например, в международной заявке на патент WO 2016032949, которая полностью включена в данный документ. В некоторых вариантах осуществления способы диагностики типа амилоидоза включают реактивный к амилоиду пептид с аминокислотной последовательностью, указанной в SEQ ID NO:13. В некоторых вариантах осуществления способы диагностики типа амилоидоза включают p5+14.

Таблица 1. Примеры последовательностей реактивного к амилоиду пептида

ПЕПТИД	ПЕРВИЧНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ:	SEQ ID NO
P5	KAQKA QAKQA KQAQK AQKAQ AKQAK Q	SEQ ID NO: 1
P5R	RAQRA QARQA RQAQR AQRQA ARQAR Q	SEQ ID NO: 2
P5G	GAQGA QAGQA GQAQG AQGAQ AGQAG Q	SEQ ID NO: 3
P8	КАКАК АКАКА КАКАК	SEQ ID NO: 4
P9	KAQAK AQAQA QAKAQ AKAQA KAQAK AQAK	SEQ ID NO: 5
P19	KAQQA QAKQA QQAQK AQQAQ AKQAA Q	SEQ ID NO: 6
P20	QAQKA QAQQA KQAQQ AQKAQ AQQAK Q	SEQ ID NO: 7
P31	KAQKA QAKQA KQAQK AQKAQ AKQAK Q	SEQ ID NO: 8
P37	KTVKT VTKVT KVTVK TVKTV TKVTK V	SEQ ID NO: 9
P42	VYKVK TKVKT KVKTK VKT	SEQ ID NO: 10
P43	AQAYS KAQKA QAKQA KQAQK AQKAQ AKAK Q	SEQ ID NO: 11

P44	AQAYA RAQRA QARQA RQAQR AQRAQ ARQAR Q	SEQ ID NO: 12
P5+14	KAQKA QAKQA KQAQK AQKAQ AKQAK QAQKA QKAQA KQAKQ	SEQ ID NO: 13
P5R+14	RAQRA QARQA RQAQR AQRAQ ARQAR QAQRA QRAQA RQARQ	SEQ ID NO: 14

Аминокислоты, образующие все или часть реактивных к амилоиду пептидов, используемых в данном способах, могут быть стереоизомерами и модификациями природных аминокислот, неприродных аминокислот, посттрансляционно модифицированных аминокислот, ферментативно синтезированных аминокислот, дериватизированных аминокислот, конструкций или структур, предназначенных для имитации аминокислот, и т.п. Аминокислоты, образующие пептиды по настоящему изобретению, могут представлять собой одну или более из 20 обычных аминокислот, встречающихся в природных белках, или одну или более модифицированных и необычных аминокислот. Реактивные к амилоиду пептиды, используемые в описанных в данном документе способах, могут быть получены любым известным методом, известным специалистам в данной области техники, включая химический синтез или рекомбинантные способы с использованием стандартных методов молекулярной биологии.

Пептиды по настоящему изобретению могут также содержать одну или более модифицированных аминокислот. Модифицированная аминокислота может представлять собой дериватизированную аминокислоту или модифицированную и необычную аминокислоту. Примеры модифицированных и необычных аминокислот включают, но не ограничиваются ими, 2-аминоадипиновую кислоту (Aad), 3-аминоадипиновую кислоту (Baad), β-аминопропионовую кислоту (Bala, β-аланин), 2-аминомасляную кислоту (Abu, пиперидиновую кислоту), 4-аминомасляную кислоту (4Abu), 6-аминокапроновую кислоту (Acp), 2-аминогептановую кислоту (Ahe), 2-аминоизомасляную кислоту (Aib), 3-аминоизомасляную кислоту (Baib), 2-аминопимелиновую кислоту (Apm), 2,4-диаминомасляную кислоту (Dbu), десмозин (Des), 2,2'-диаминопимелиновую кислоту (Dpm), 2,3-диаминопропионовую кислоту (Dpr), N-этилглицин (EtGly), N-этиласпарагин (EtAsn), гидроксизин (Hyl), алло-гидроксизин (AHyl), 3-гидроксипролин (3Hyp), 4-гидроксипролин (4Hyp), изодесмозин (Ide), алло-изолейцин (Alle), N-метилглицин (MeGly, саркозин), N-метилизололейцин (Melle), 6-N-метиллизин (MeLys), N-метилвалин (MeVal), норвалин (Nva), норлейцин (Nle) и орнитин (Orn).

Другие примеры модифицированных и необычных аминокислот описаны в общих чертах в *Synthetic Peptides: A User's Guide, Second Edition, April 2002, Edited Gregory A. Grant, Oxford University Press*; Hruba V J, Al-obeidi F and Kazmierski W: *Biochem J* 268:249-262, 1990; и Toniolo C: *Int J Peptide Protein Res* 35:287-300, 1990; идеи которых включены в данный документ посредством ссылки.

Пептиды по настоящему изобретению могут содержать по меньшей мере около 15% положительно заряженных аминокислот, таких как аргинин и/или лизин. Пептиды

содержат от около 15% до около 50%, от около 20% до около 45%, от около 25% до около 40% или от около 30% до около 35% положительно заряженных аминокислот. В одном варианте осуществления пептиды по настоящему изобретению могут включать следующую аминокислотную последовательность:

XBXBXBXBXBXBXBXBXBXBXBXBXBX, (SEQ ID NO: 15), где

X представляет собой любую аминокислоту, включая модифицированную незаряженную аминокислоту; и B представляет собой положительно заряженную аминокислоту.

В одном варианте осуществления пептиды по настоящему изобретению содержат SEQ ID NO: 15, где X представляет собой аланин, валин, серин, треонин или глицин, а B представляет собой аргинин, лизин или гистидин. Пептиды по настоящему изобретению могут содержать или состоять из SEQ ID NO: 15. Пептиды по настоящему изобретению могут содержать не более 55 аминокислот и включать аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 15.

В еще одном варианте осуществления пептид может включать следующую аминокислотную последовательность:

BXZBXZXBZXBZXBZXBZXBZXBZ, (SEQ ID NO: 16), где B представляет собой аргинин, лизин или гистидин; X представляет собой изолейцин, лейцин, метионин, валин, глицин, фенилаланин, триптофан, тирозин, серин, треонин, аспарагин или модифицированную незаряженную аминокислоту; и Z может представлять собой изолейцин, лейцин, метионин, валин, глицин, фенилаланин, триптофан, тирозин, серин, треонин, аспарагин или модифицированную незаряженную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления пептиды по настоящему изобретению могут включать или состоять из следующей аминокислотной последовательности: SRAQRAQARQARQAQRAQRAQARQARQ. (SEQ ID NO: 17)

Пептиды по настоящему изобретению могут представлять собой слитый белок, содержащий второй пептид в качестве лидерной последовательности на amino-конце, такой как CGGY (SEQ ID NO: 18) или GGGY (SEQ ID NO: 19), для мечения агентом для обнаружения. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент может содержать не более 55 аминокислот и включать аминокислотную последовательность, как указано в SEQ ID NO: 17. CGGYSRAQRAQARQARQAQRAQRAQARQARQ. (SEQ ID NO: 20)

Слитый белок может содержать другие лидерные последовательности, такие как проникающий в клетку пептид (CPP), или проникающий через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) пептид.

В настоящем изобретении также предложены другие пептиды и слитые белки, богатые положительно заряженными аминокислотами, для визуализации амилоидов.

Пептиды по настоящему изобретению могут быть получены любым способом, известным специалистам в данной области техники, включая химический синтез, рекомбинантные способы с использованием стандартных методов молекулярной биологии

или выделение пептидов из природных источников. Пептиды могут быть синтезированы в растворе или на твердом носителе в соответствии с обычными методиками. Различные автоматические синтезаторы имеются в продаже и могут использоваться в соответствии с известными протоколами. (См., например, Stewart and Young, *Solid Phase Peptide Synthesis*, 2d ed. Pierce Chemical Co., 1984; Tam et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 105:6442, 1983; Merrifield, *Science*, 232: 341-347, 1986; и Barany and Merrifield, *The Peptides*, Gross and Meienhofer, eds., Academic Press, New York, pp. 1-284, 1979, каждый из них полностью включен в данном документе посредством ссылки).

В качестве альтернативы можно использовать технологию рекомбинантной ДНК, при которой нуклеотидную последовательность, кодирующую пептид по изобретению, встраивают в вектор экспрессии, трансформируют или трансфицируют в подходящую клетку-хозяина, культивируют в условиях, подходящих для экспрессии, и выделяют пептид.

В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент может представлять собой природный пептид и может быть получен путем выделения или очистки из его природных источников. Методы очистки белков включают, на одном уровне, гомогенизацию и грубое фракционирование клеток, тканей или органов на пептидные и непептидные фракции. Другие способы очистки белков включают, например, осаждение сульфатом аммония, полиэтиленгликолем (ПЭГ), антителами и т.п. или денатурацию нагреванием с последующим: центрифугированием; стадиями хроматографии, такими как ионный обмен, гель-фильтрация, обращенно-фазовая, гидроксиапатитная и аффинная хроматография; изоэлектрическая фокусировка; гель-электрофорез, например, электрофорез в полиакриламидном геле; и комбинации этих и других методов

Различные хроматографические методы включают, но не ограничиваются ими, ионообменную хроматографию, гель-эксклюзионную хроматографию, аффинную хроматографию, иммуноаффинную хроматографию и обращенно-фазовую хроматографию. Особенно эффективным методом очистки пептидов является жидкостная хроматография быстрого разрешения (FPLC) или даже высокоэффективная жидкостная хроматография (HPLC).

Порядок проведения различных стадий очистки может быть изменен, или определенные стадии могут быть опущены, и все равно будет получен подходящий способ получения по существу очищенного пептида. Пептиды по настоящему изобретению могут быть частью полипептида или белка и могут быть получены путем биохимической или ферментативной фрагментации полипептида или белка. Соответственно, пептиды по настоящему изобретению могут быть (a) природными, (b) получены путем химического синтеза, (c) получены с помощью технологии рекомбинантной ДНК, (d) получены путем биохимической или ферментативной фрагментации более крупных молекул, (e) получены способами в результате комбинации способов от a до e, перечисленных выше, или (f) получены любыми другими способами получения пептидов.

Во время химического синтеза пептиды могут быть модифицированы на их N- или

С-конце, что обеспечивает улучшенную стабильность и состав, устойчивость к деградации протеазами и т.п. Примеры модификаций аминокислот включают пэгилирование, ацетилирование, алкилирование, формилирование, амидирование. Более того, для повышения стабильности пептидов могут быть введены различные аминокислоты, которые в природе не встречаются в цепи.

Цистеин также полезен для облегчения мечения пептидов по настоящему изобретению биотином, флуорофорами или другими лигандами посредством конъюгации. Более того, цистеин на лидерном пептиде позволяет генерировать ковалентно связанные димерные молекулы, которые могут увеличить относительную аффинность пептидов к их мишеням.

В конкретных вариантах осуществления способы включают введение реактивного амилоида агента или красителя для обнаружения, включающего флорбетапир (^{18}F -флорбетапир, Amyvid®), флортабен (^{18}F -флорбетабен, Neugaseq®) или флутементанол (^{18}F -флутеметамол, Vizamyl®). В еще одном варианте осуществления способы диагностики типа амилоида включают введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения, содержащего тиофлавин Т (ThT). Другие иллюстративные реактивные к амилоиду агенты или красители, которые можно использовать с описанными в данном документе способами, включают, без ограничения, 3,3-дифосфоно-1,2-пропандикарбоновую кислоту (DPD), гидроксил-дифосфонат (HDP), гидроксиметилдифосфонат (HMDP), пиррофосфат олова (PyP), NAV4694 (^{18}F -NAV4694, ^{18}F -AZD4694), тиофлавин S (ThS), белок или пептид сывороточного амилоида Р (SAP), белок или пептид сывороточного амилоида А (SAA), белок или пептид Тау, конго красный, конго-коринф, бензопурпурин 4В, витальный красный, трипановый синий, амидо-черный 10В, кислый фуксин, ^{11}C -Pittsburgh Compound В (^{11}C -PIВ), ^{18}F -ТНК5317, ^{18}F -ТНК5351, ^{18}F -флортауципир (^{18}F -флортауципир, ^{18}F -AV-1451), ^{18}F -Т807, ^{18}F -фтордезоксиглюкозу (^{18}F -2-фтор-2-дезоксид-глюкозу, ^{18}F -FDG), ^{18}F -МК-6240, ^{18}F -PI-2620, ^{11}C -UCB-J, митохондриальный транслокаторный белок (TSPO) или пептид, ^{11}C -R-ПК11195, ^{18}F -DPA-714 и ^{11}C -PBR28, ^{11}C -BF-227, или реактивное к амилоиду антитело или его фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления способ диагностики типа амилоидоза включает введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения, содержащего обнаруживаемую метку. Без ограничения это может включать радионуклиды (например, C - 11 , I - 125 , I - 123 , I - 131 , Zr - 89 , Tc - $^{99\text{m}}$, Cu - 64 , Br - 76 , F - 18); ферменты (пероксидазу хрена); биотин; флуорофоры и др. Любые средства, известные в данной области техники для обнаруживаемого мечения белка, могут быть использованы и/или адаптированы для применения со способами, описанными в данном документе. Например, реактивные к амилоиду пептиды могут быть помечены радиоактивным изотопом или помечены флуоресцентной меткой или хемилюминесцентной меткой. Примеры радиоизотопов включают, например, ^{11}C , ^{18}F , ^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, и ^{123}I , ^{124}I , и ^{125}I . Эти и другие радиоизотопы могут быть включены в реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения. Примеры флуоресцентных или хемилюминесцентных меток включают флуоресцеин, тexasский

красный, родамин, красители Alexa и люциферазу, которые могут быть включены в реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения с использованием обычных способов в данной области техники.

В некоторых вариантах осуществления способы диагностики типа амилоидоза включают введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения, содержащего радиоактивную метку. В некоторых вариантах осуществления радиоактивная метка представляет собой ^{11}C , ^{18}F , ^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{89}Zr и ^{123}I , ^{124}I , или ^{125}I . В некоторых вариантах осуществления радиоактивно меченый реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения представляет собой радиоактивно меченый амилоидреактивный пептид. В некоторых вариантах осуществления радиоактивно меченный реактивный к амилоиду пептид представляет собой меченный ^{124}I реактивный к амилоиду пептид. В других вариантах осуществления способ диагностики типа амилоидоза включает введение ^{124}I -p5+14. В других вариантах осуществления радиоактивно меченный реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения представляет собой флорбетапир, флортабен или флутеметамол.

В другом варианте осуществления способы диагностики типа амилоидоза включают введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения, содержащего флуоресцентную метку. В некоторых вариантах осуществления флуоресцентно меченный реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения представляет собой тиофлавин Т (ThT).

В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения содержат реактивны к амилоиду пептид, конъюгированный с радиоактивной меткой. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения содержат пептид, конъюгированный с объемообразующим агентом. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду пептид конъюгирован с ПЭГ. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду пептид конъюгирован с антителом.

В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду пептид или краситель для обнаружения специфически связываются с амилоидными отложениями. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения способны обнаруживать наличие, отсутствие или количество амилоида у субъекта. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель перекрестно реагирует с амилоидными отложениями, образованными рядом различных белков. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения связываются с амилоидными отложениями, образованными различными белками и/или пептидами. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения связываются с амилоидными отложениями, образованными амилоидом легкой цепи (AL). В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения связываются с амилоидом, образованным фибриллами транстиретина (TTR). В некоторых

вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения связывается с амилоидом, образованным сывороточным амилоидным белком А (sAA). В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения связывается с амилоидом, образованным амилоидогенными формами тяжелой цепи иммуноглобулина (АН), β_2 -микроглобулин ($A\beta_2M$), вариантами транстретина (ATTR), аполипопротеином AI (AApoAI), аполипопротеином AII (AApoAII), гельзолином (AGel), лизоцимом (ALys), лейкоцитарным хемотаксическим фактором (ALECT2), вариантами фибриногена а (AFib), вариантами цистатина (ACys), кальцитонином ((ACal), лактадгерином (AMed), островковым амилоидным полипептидом (AIAPP), пролактином (APro), инсулином (AIns), прионным белком (APrP), α -синуклеином ($A\alpha$ Syn), Тау (ATau), предсердным натрийуретическим фактором (AANF), IAAP, ALk4, или A1 λ 1.

В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения связываются с геперансульфатными гликозаминогликанами (GAG). В некоторых вариантах осуществления GAG связаны с амилоидными отложениями. Связывание GAG с амилоидными фибриллами происходит в основном за счет электростатических взаимодействий с участием отрицательных зарядов полиэлектролитов и положительно заряженных остатков боковых цепей агрегирующего белка. Подобно катализаторам реакций, GAG способствуют агрегации, нуклеации и образованию амилоидных фибрилл, функционирующих в качестве структурных матриц для самосборки высокоцитотоксичных олигомерных предшественников, богатых β -листами, в амилоидные фибриллы. Кроме того, активность GAG, стимулирующая образование амилоидов, может быть усилена за счет специфических взаимодействий через консенсусные сайты связывания между амилоидным полипептидом и молекулами GAG.

В некоторых вариантах осуществления способ включает введение индивидууму реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения вводят в фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит водный буфер. Композиции могут также включать солюбилизующий агент и местный анестетик, такой как лигнокаин, для облегчения боли в месте инъекции. Ингредиенты в единичную дозированную форму вводятся по отдельности или смешанными вместе, например, в виде сухого лиофилизированного порошка или безводного концентрата в герметически закрытом контейнере, таком как ампула, с указанием количества действующего вещества. Когда предполагается введение композиции путем инфузии, ее можно наливать в бутылку для инфузий, содержащую воду или солевой раствор фармацевтического качества. Когда композицию вводят путем инъекции, то может прилагаться ампулу стерильной воды для инъекций или солевой раствор, чтобы ингредиенты можно было смешивать перед введением.

Композиции могут дополнительно содержать носитель. Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим один или более пептидов

и/или слитых пептидов по настоящему изобретению. Такие фармацевтические композиции содержат эффективное количество пептида или слитого пептида для связывания и обнаружения амилоидов и фармацевтически приемлемый носитель.

Фармацевтически приемлемые носители включают твердые или жидкие носители или компоненты, которые могут быть добавлены для улучшения или стабилизации композиции или для облегчения приготовления композиции, включая, без ограничения, сироп, воду, изотонический солевой раствор, 5% декстрозу в воде или забуференный натрий или раствор ацетата аммония, масла, глицерин, спирты и др. Примеры масел включают масла нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло и кунжутное масло. Носитель также может включать материал с замедленным высвобождением, такой как моностеарат глицерина или дистеарат глицерина, отдельно или с воском. Другие подходящие фармацевтические носители включают, но не ограничиваются ими, крахмал, глюкозу, лактозу, сахарозу, желатин, солод, рис, муку, мед, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, пропилен, гликоль, воду, этанол, ароматизаторы, консерванты, красители, разбавители, гранулирующие агенты, смазывающие вещества, связующие вещества и т.п.

Вода может быть предпочтительным носителем при внутривенном введении фармацевтической композиции. Солевые растворы и водные растворы декстрозы и глицерина также можно использовать в качестве жидких носителей, в частности, для растворов для инъекций. Композиция, при необходимости, может также содержать незначительные количества смачивающих или эмульсифицирующих агентов или рН-забуференных агентов. Такие композиции могут находиться в форме растворов, суспензий, эмульсий, таблеток, пилюль, капсул, порошков, составов с замедленным высвобождением и т. п. Композиции можно готовить в виде суппозитория с традиционными связующими агентами и носителями, такими как триглицериды. Пероральные составы, могут содержать стандартные носители, такие как фармацевтической степени чистоты маннит, лактозу, крахмал, стеарат магния, сахарин натрия, целлюлозу, карбонат магния и т. д. Примеры других подходящих носителей описаны в "Remington's Pharmaceutical Sciences" by E. W. Martin.

Способы визуализации амилоидов включают, помимо прочего, магнитно-резонансную томографию (МРТ), компьютерную аксиальную томографию (КАТ), позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ), ультразвуковую визуализацию, рентгеновский анализ, радионуклидную визуализацию, однофотонную эмиссионную компьютерную томографию (ОФЭКТ) и многофотонную микроскопию.

Для повышения чувствительности сканирования могут использоваться различные контрастные вещества. Контрастные вещества для сканирования могут включать все молекулы, ослабляющие рентгеновское излучение. Для позитронно-эмиссионной томографии и радионуклидной визуализации можно использовать радиоизотопы. Все изотопы, испускающие позитроны, пригодны для визуализации радионуклидов с помощью

позитронно-эмиссионной томографии, а все изотопы, испускающие γ -фотоны, пригодны для визуализации радионуклидов.

Контрастные агенты для ультразвуковой визуализации включают позитивные агенты и негативные агенты. Позитивные агенты отражают ультразвуковую энергию и, таким образом, создают позитивное (световое) изображение. Соответственно, негативные агенты усиливают трансмиссивность или ультразвуковую прозрачность и, таким образом, создают негативное (темное) изображение. Различные субстанции - газы, жидкости, твердые тела и их комбинации - были исследованы в качестве потенциальных агентов, усиливающих контраст. Примеры контрастных агентов с твердыми частицами, описанные в патенте США № 5558854, включают, но не ограничиваются ими, частицы IDE и SHU454. В заявке на европейский патент 0231091 описаны эмульсии масла в воде, содержащие высокофторированные органические соединения, для обеспечения повышенной контрастности ультразвукового изображения. Эмульсии, содержащие перфтороктилбромид (PFOB), также исследовали в качестве агентов для ультразвуковой визуализации. В патенте США № 4900540 описано применение липосом на основе фосфолипидов, содержащих газ или предшественник газа, в качестве агента, усиливающего контраст.

Несколько классов соединений потенциально могут использоваться в качестве контрастных агентов для МРТ. Эти классы включают супрапарамагнитные частицы оксида железа, нитроксиды и парамагнитные хелаты металлов (Mann et al., 1995). Предпочтительным является сильный парамагнитный металл. Как правило, парамагнитные лантаноиды и ионы переходных металлов токсичны *in vivo*. Таким образом, необходимо включать эти соединения в хелаты с органическими лигандами. Пептиды и слитые пептиды по настоящему изобретению можно использовать для улучшения нацеливания таких хелатированных металлов на амилоиды, что позволяет снизить общую дозу композиции для визуализации, которая необходима в противном случае.

Визуализирующие агенты могут быть присоединены к пептидам и слитым пептидам с использованием известных способов. Некоторые способы присоединения включают использование металлохелатного комплекса с применением, например, органического хелатирующего агента, такого как ДТРА. Приемлемые хелаты известны в данной области техники. Они включают, но не ограничиваются ими, 1,4,7,10-тетраазациклододекан-N,N',N'',N'''-тетрауксусную кислоту (DOTA); 1,4,7,10-тетраазациклододекан-N,N',N''-триуксусную кислоту (DO3A); 1,4,7-трис(карбоксиметил)-10-(2-гидроксипропил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан (HP-DO3A); диэтилентриаминпентауксусную кислоту (ДТРА); и многие другие.

Несколько классов соединений потенциально могут использоваться в качестве контрастных агентов для МРТ. Эти классы включают супрапарамагнитные частицы оксида железа, нитроксиды и парамагнитные хелаты металлов (Mann et al., 1995). Предпочтительным является сильный парамагнитный металл. Как правило, парамагнитные лантаноиды и ионы переходных металлов токсичны *in vivo*. Таким образом, необходимо

включать эти соединения в хелаты с органическими лигандами. Пептиды и слитые пептиды по настоящему изобретению можно использовать для улучшения нацеливания таких хелатированных металлов на амилоиды, что позволяет снизить общую дозу композиции для визуализации, которая необходима в противном случае.

Для хелатирования подходят парамагнитные металлы широкого спектра. Подходящие металлы включают те, которые имеют атомные номера 22-29 (включительно), 42, 44 и 58-70 (включительно) и степень окисления 2 или 3. Примеры таких металлов включают, но не ограничиваются ими, хром (III), марганец (II), железо (II), кобальт (II), никель (II), медь (II), празеодим (III), неодим (III), самарий (III), гадолиний (III), тербий (III), диспрозий (III), гольмий (III), эрбий (III), иттербий (III) и ванадий (II). Ионы, применяемые в других контекстах, таких как рентгеновская визуализация, включают, помимо прочего, лантан (III), золото (III), свинец (II) и особенно висмут (III).

Среди радиоизотопов, которые могут быть использованы для мечения пептидов и слитых пептидов по настоящему изобретению, подходящих для исследований локализации, есть гамма-излучатели, позитронные излучатели, рентгеновские излучатели и флуоресцентные излучатели. Подходящие радиоизотопы для мечения пептидов и слитых белков включают астат²¹¹, бром⁷⁶, ¹⁴углерод, ¹¹углерод, ⁵¹хром, ³⁶хлор, ⁵⁷кобальт, ⁵⁸кобальт, медь⁶⁷, медь⁶⁴, ¹⁵²европий, фтор¹⁸, галлий⁶⁷, галлий⁶⁸, ³водород, йод¹²³, йод¹²⁴, йод¹²⁵, йод¹²⁶, йод¹³¹, индий¹¹¹, индий^{113m}, ⁵⁹железо, ¹⁷⁷лютеций, ртуть¹⁰⁷, ртуть²⁰³, ³²фосфор, рений¹⁸⁶, рений¹⁸⁸, рутений⁹⁵, рутений⁹⁷, рутений¹⁰³, рутений¹⁰⁵, рений^{99m}, рений¹⁰⁵, рений¹⁰¹, ⁷⁵селен, ³⁵сера, технеций^{99m}, теллур^{121m}, теллур^{122m}, теллур^{125m}, тулий¹⁶⁵, тулий¹⁶⁷, тулий¹⁶⁸ и иттрий⁹⁰. Галогены могут использоваться более или менее взаимозаменяемо в качестве меток. Гамма-излучатели, йод¹²³ и технеций^{99m}, также могут использоваться, поскольку такие радиометаллы обнаруживаются с помощью гамма-камеры и имеют благоприятный период полураспада для визуализации *in vivo*. Также можно использовать излучатели позитронов ¹⁸-фтор или ¹²⁴йод, которые подходят для ПЭТ-визуализации и имеют подходящие периоды полураспада для визуализации пептидов. Пептиды и слитые пептиды по настоящему изобретению могут быть помечены индием¹¹¹ или технецием^{99m} с помощью конъюгированного хелатора металла, такого как ДТРА (диэтилтриаминпентауксусная кислота), или ковалентно и непосредственно к фланкирующему пептиду, который содержит остаток Cys.

Радиоактивно меченные пептиды или слитые пептиды могут быть получены в соответствии с хорошо известными в данной области техники способами. Например, их можно йодировать при контакте с йодидом натрия или калия и химическим окислителем, таким как гипохлорит натрия, или ферментативным окислителем, таким как лактопероксидаза. Пептиды или слитые пептиды согласно изобретению могут быть помечены технецием^{99m} путем замены лиганда, например, восстановлением пертехната раствором двухвалентного олова, хелатированием восстановленного технеция на колонке с сефадексом и нанесением пептида на эту колонку, или методами прямого мечения, например, путем инкубации пертехната, восстанавливающего агента, такого как SnCl₂,

буферного раствора, такого как раствор фталата натрия-калия, и пептида. Промежуточные функциональные группы, которые часто используются для связывания радиоизотопов, существующих в виде ионов металлов, с пептидами, представляют собой диэтиленetriаминпентауксусную кислоту (ДТРА) и этилендиаминтетрауксусную кислоту (EDTA), как упоминалось ранее.

Другие полезные метки включают флуоресцентные метки, хромогенные метки и биотиновые метки. Флуоресцентные метки включают, помимо прочего, родамин, флуоресцеин изотиоцианат, флуоресцеин натрия, ренографин и тexasский красный сульфонилхлорид. В некоторых вариантах осуществления пептиды и слитые пептиды по настоящему изобретению могут быть связаны со вторичным связывающим лигандом или с ферментом (ферментной меткой), который будет образовывать окрашенный продукт при контакте с хромогенным субстратом. Примеры подходящих ферментов включают уреазу, щелочную фосфатазу, гидропероксидазу (хрена) и глюкозооксидазу. Вторичные связывающие лиганды включают соединения биотина и авидина или стрептавидина. Использование таких меток хорошо известно специалистам в данной области техники и описано, например, в патенте США №№ 3817837; 3850752; 3939350; 3996345; 4277437; 4275149 и 4366241; каждый включен в данный документ посредством ссылки.

В настоящем изобретении предложен способ обнаружения амилоидов у субъекта. Способ включает введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей эффективное количество одного или более пептидов или слитых пептидов по настоящему изобретению, и определение пептидов или слитых пептидов, связанных с амилоидами. Пептиды могут быть помечены визуализирующим агентом, таким как радиоизотоп. Пептид имеет специфическую аффинность связывания с отложениями, и это связывание можно обнаружить. Связывание пептидов или слитых пептидов с амилоидами можно обнаружить с помощью МРТ, компьютерной томографии, ПЭТ, ультразвуковой визуализации, ОФЭКТ, рентгеновской визуализации, флуоресцентной визуализации или радионуклидной визуализации.

В некоторых случаях способы диагностики типа амилоидоза включают введение индивидууму обнаруживаемого количества реактивного к амилоиду реагента или красителя. Обнаруживаемое количество, подлежащее введению, может основываться на типе выполняемого обнаружения. Например, в некоторых вариантах осуществления обнаруживаемое количество реактивного к амилоиду реагента или красителя может быть достаточным для обнаружения с помощью визуализации при введении субъекту. Обнаруживаемое количество реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения, вводимого индивидууму, может варьироваться в зависимости от таких факторов, как возраст, пол и масса индивидуума, специфическая реакция индивидуума, дозиметрия, состав и связанные с прибором факторы. Оптимизация таких факторов находится в рамках уровня квалификации в данной области техники. Обнаруживаемое количество реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения также может варьироваться в зависимости от способа введения реактивного к амилоиду агента или

красителя для обнаружения.

В некоторых случаях реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения вводят парентерально, вблизи опухоли, через слизистую оболочку, трансдермально, внутримышечно, внутривенно, внутрикожно, подкожно, внутрибрюшинно, внутрижелудочно или внутричерепно. В некоторых случаях реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения вводят внутривенно. В других случаях реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения вводят внутрибрюшинно.

Специалисту в данной области техники также будет понятно, что эффективное количество реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения можно вводить в виде одной дозы или можно получить путем введения нескольких доз. В некоторых случаях введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения может дополнительно включать введение раствора для промывания. Например, раствор для промывания, т.е. солевой раствор, можно вводить сразу же после введения реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения или по прошествии установленного периода времени после введения реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения. В других случаях реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения могут метаболизироваться и выделяться через определенный период времени после введения.

В некоторых вариантах осуществления способы диагностики типа амилоидоза включают обнаружение амилоидов с помощью реактивного к амилоиду реагента или красителя для обнаружения. Примеры амилоидов, которые могут быть обнаружены в рамках настоящих способов, включают, но не ограничиваются ими, амилоидогенные формы тяжелой цепи иммуноглобулина (АН), β_2 -микроглобулин ($A\beta_2M$), варианты транстиретина (ATTR), бета-амилоид ($A\beta$), аполипопротеин AI (AApoAI), аполипопротеин AII (AApoAII), гельзолин (AGel), лизоцим (ALys), лейкоцитарный хемотаксический фактор (ALect2), варианты фибриногена а (AFib), варианты цистатина (ACys), кальцитонин (ACal), лактадгерин (AMed), островковый амилоидный полипептид (AIAPP), пролактин (APro), инсулин (AIns), прионный белок (APrP), α -синуклеин ($A\alpha$ Syn), Тау (ATau), предсердный натрийуретический фактор (AANF), или IAAP другие амилоидогенные пептиды. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения способ диагностики типа амилоидоза включает обнаружение амилоидов ATTR, AL и/или ALECT2. В других вариантах осуществления способ диагностики типа амилоидоза включает различение амилоидов ATTR, AL и ALECT2.

В некоторых вариантах осуществления способы диагностики типа амилоидоза включают определения профиля распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения, при этом профиль распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения указывает на тип амилоидоза. Тип амилоидоза может быть спорадическим амилоидозом или иметь генетический компонент, например, наследственный амилоидоз. Некоторые неограничивающие примеры амилоидозов представляет собой AA-амилоидоз, AL-амилоидоз, АН-амилоидоз, $A\beta$ -

амилоидоз, АТТН-амилоидоз, АLect2-амилоидоз и IAPP-амилоидоз диабета II типа, болезнь Альцгеймера, синдром Дауна, наследственную церебральную геморрагию в мозг с амилоидозом голландского типа, церебральную бета-амилоидную ангиопатию, губчатую энцефалопатию, опухоли щитовидной железы, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Льюиса, таупатию, болезнь Гентингтона, старческий системный амилоидоз, семейный амилоидоз, старческое системное старение, старческое гипофизарное расстройство, ятрогенный синдром, губчатые энцефалопатии, реактивное хроническое воспаление, опухоли щитовидной железы, миелому или другие формы злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления тип амилоидоза представляет собой системный амилоидоз. В некоторых вариантах осуществления тип амилоидоза представляет собой AL-амилоидоз, АТТН-амилоидоз или АLECT2-амилоидоз.

В некоторых вариантах осуществления способы диагностики типа амилоидоза включают определение профиля распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в одном или более органах. Не ограничиваясь какой-либо теорией, считается, что анатомическое распределение амилоида при каждой форме заболевания может иметь специфический профиль. Например, амилоидные отложения при АТТН-амилоидозе преобладают в сердце и периферических нервах, в то время как при AL-амилоидозе, другом распространенном амилоидозе, наблюдается переменный профиль амилоидных отложений, при этом амилоиды наблюдаются, например, в сердце, селезенке, печени, почках, периферических нервах, желудочно-кишечном тракте, мышцах, легком и лимфатических узлах. В некоторых вариантах осуществления способы диагностики типа амилоидоза включают определение профиля распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в одном или более органах: сердце, селезенка, печень, почки, периферические нервы, желудочно-кишечный тракт, мышцы, легкие, головной мозг и лимфатические узлы. В некоторых вариантах осуществления один или более органов представляют собой абдоминально-торакальные органы. В некоторых вариантах осуществления один или более органов представляют собой сердце, селезенку, печень или почки.

В некоторых вариантах осуществления стадия определения профиля распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в одном или более органах, как в настоящих способах, включает определение показателя поглощения каждым органом. Поглощение органом можно определить способами, известными специалистам в данной области техники. Например, показатель поглощения органом может указывать на относительные или абсолютные уровни реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения, обнаруживаемые в каждом органе индивидуума. В некоторых вариантах осуществления отношения показателей поглощений органом является относительным показателем поглощения. В некоторых вариантах осуществления показатель поглощения органом является стандартным показателем поглощения для каждого органа. Как должно быть понятно специалистам в данной области, стандартный показатель поглощения может быть определен путем измерения количества реактивного к

амилоиду агента или красителя для обнаружения, обнаруживаемого в реактивном органе, например, сердце, относительно количества реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения, обнаруженного в неактивной ткани или образце, например, крови. Количество реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в органе можно определить, например, путем количественного определения обнаруживаемого сигнала от реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в органе, т.е. путем вычисления значений пикселей в изображении. В некоторых вариантах осуществления стандартный показатель поглощения определяется как отношение количества реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения, обнаруженного в органе, и количества реактивного для амилоида агента или красителя для обнаружения, обнаруженного в крови. В некоторых вариантах осуществления показатель поглощения органом указывает на профиль распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения.

В других случаях способы определения типа амилоидоза включают введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения и расчет отношения органа к органу для двух или более органов. В некоторых случаях стадия вычисления отношения органа к органу для двух или более органов включает вычисление отношения между показателем поглощения органом для первого органа и показателем поглощения органом для второго органа. В некоторых случаях отношение органа к органу выбрано из группы, состоящей из печени к сердцу, селезенки к сердцу, селезенки к печени, селезенки к почкам, почки к сердцу и почки к печени. В некоторых случаях отношение органа к органу равно отношению сердца к селезенке. В некоторых случаях отношение органа к органу составляет от 0 до 1, 1 или выше 1. В некоторых случаях отношение органа к органу указывает на тип амилоидоза у индивидуума.

В некоторых вариантах осуществления показатель поглощения органом или отношение органа к органу указывают на тип амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления показатель поглощения органом или отношение органа к органу указывают на тип амилоидоза только в том случае, если они превышают пороговое значение. Например, в некоторых вариантах осуществления, если отношение органа к органу составляет 1,4 для какого-либо типа амилоидоза, то будет поставлен диагноз данного типа амилоидоза, если для индивидуума рассчитано отношение органа к органу 1,4 или более. В качестве другого неограничивающего примера, если пороговое значение показателя поглощения органом составляет 1,4 для какого-либо типа амилоидоза, то диагноз данного типа амилоидоза не подходит, если у человека рассчитанное отношение органа к органу ниже 1,4. Конкретное пороговое значение для диагностики типа амилоидоза может варьироваться в зависимости от типа амилоидоза, прогрессирования заболевания, индивидуальных данных пациента, вводимого реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения и используемого способа обнаружения. В некоторых вариантах осуществления пороговое значение показателя поглощения органом или отношения органа к органу рассчитывают на основе данных о распределении по органам реактивного к

амилоиду агента или красителя для обнаружения. В некоторых вариантах осуществления пороговое значение показателя поглощения органом или отношения органа к органу рассчитывают на основе данных по популяции с конкретным типом амилоидоза.

Предпочтительно, показатели поглощения органами или пороговые значения для отношения показателей поглощения органами для диагностики типа амилоидоза определяют с использованием кривой зависимости чувствительности от частоты ложноположительных заключений. Как известно в данной области техники, кривая зависимости чувствительности от частоты ложноположительных заключений или ROC-кривая представляет собой график характеристик конкретного признака для различения двух популяций, пациентов с амилоидозом и контрольных, например, пациентов без амилоидоза. Данные по всей популяции (а именно, пациенты и контрольная группа) сортируются в порядке возрастания на основе значения одного признака (например, показателя поглощения органом). Затем для каждого значения этой функции определяются доля истинно положительных и ложно положительных результатов для данных. Доля истинно положительных результатов (чувствительность) определяется путем подсчета числа случаев, превышающих значение рассматриваемого признака, и последующего деления на общее количество пациентов. Доля ложно положительных результатов (специфичность) определяется путем подсчета количества контролей выше значения для рассматриваемого признака и последующего деления на общее количество контролей.

ROC-кривые могут быть получены для одного объекта, а также для других отдельных выходных данных, например, комбинации двух или более объектов математически складывают вместе (складывают, изображают, умножают и т. д.), чтобы получить единое общее значение, которое может быть нанесено на ROC-кривую. Кроме того, любая комбинация нескольких признаков, благодаря которой комбинация приводит к одному выходному значению, может быть нанесена на ROC-кривую. Эти комбинации функций могут включать тестирование. ROC-кривая представляет собой график отношения доли истинно положительных результатов (чувствительности) теста к доли ложно положительных результатов (1-специфичность) теста. Площадь под ROC-кривой может быть показателем качества для данной выборочной совокупности с тестом в диапазоне от 1 до 0 для полного теста, который дает совершенно случайный ответ при классификации исследуемых субъектов. Как и в любом диагностическом приложении, площадь под ROC-кривой указывает на прогностическую способность модели и может использоваться для сравнения прогностической способности одной модели с другой. Используя ROC-кривую можно выбрать пороговое значение для диагностики амилоидоза и/или типа амилоида у индивидуума с высокой достоверностью.

В некоторых вариантах осуществления и стадии определения профиля распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в одном или более органах, или стадия расчета отношения органа к органу для реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения включает анализ данных визуализации. Данные визуализации могут быть получены с помощью любой процедуры, известной в

данной области техники, которая позволяет визуализировать реактивный к амилоиду реагент или краситель. Например, реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения можно обнаружить с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), компьютерной томографии (КТ), магнитно-резонансной томографии (МРТ) или однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ). В определенных вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения можно обнаружить с помощью комбинированных методов визуализации, таких как ПЭТ/КТ (ПЭТ с одновременной компьютерной томографией) или ПЭТ/МРТ (ПЭТ с одновременной магнитно-резонансной томографией). Процедура визуализации может привести к получению одного или более изображений наблюдаемой области индивидуума. В некоторых вариантах осуществления визуализация приводит к более чем одному изображению, эти множественные изображения могут быть объединены, наложены друг на друга, добавлены, вычтены, кодированы цветом или иным образом объединены и математически обработаны любым способом, известным в данной области техники. Создаваемое изображение может быть цифровым или аналоговым изображением, которое может отображаться как «высококонтрастное» изображение, например, на бумаге для принтера, фотобумаге или пленке, или как изображение на экране, таком как, например, видео или ЖК-дисплей.

В некоторых вариантах осуществления ПЭТ-изображения анализируют с использованием способа анализа представляющей интерес области (ROI). В некоторых вариантах осуществления изображения представляют собой планарные изображения. В некоторых вариантах осуществления изображения представляют собой коронарные, аксиальные или сагиттальные изображения.

В некоторых вариантах осуществления способ включает получение данных о распределении по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения. В некоторых вариантах осуществления данные о распределении по органам представляют собой изображения. Изображения, полученные с использованием процедуры визуализации, воплощенной в настоящем изобретении, могут быть проанализированы любым способом, известным в данной области техники. Например, в некоторых вариантах осуществления данные изображения, полученные в результате сканирования ПЭТ или ОФЭКТ, могут быть переданы в процессор, который идентифицирует отдельные пиксели или группы пикселей, яркость которых превышает заданный порог или средний фон, а идентифицированные пиксели могут быть охарактеризованы как указывающие на присутствие реактивного к амилоиду реагента или красителя. В еще одном варианте осуществления данные изображения могут быть получены из изображений, отсканированных и переданных в процессор. В таких вариантах осуществления аналогичный процесс, который идентифицирует яркие пятна на изображении, может использоваться для обнаружения реактивного к амилоиду реагента или красителя на изображении. В некоторых вариантах осуществления анализ изображения может дополнительно включать определение интенсивности, концентрации, силы или их комбинации выходной яркости, которая может

коррелировать с количеством радиоактивно меченного белка на изображении, в регионе или области изображения или определенном участке изображения. Не желая быть связанными теорией, область или участок на изображении, имеющие большую интенсивность, чем другие области или участки, могут содержать более высокую концентрацию радиоактивно меченного белка, нацеленного, например, на отложение амилоида, и, таким образом, могут иметь более высокую концентрацию радиоактивно меченного реактивного к амилоиду реагента или красителя, присоединенный к области, где локализован реактивный к амилоиду реагент или краситель.

В некоторых вариантах осуществления способ диагностики типа амилоидоза включает анализ изображений по пространственному расположению представляющих интерес областей, на которые нацелены введенный реактивный к амилоиду или краситель для обнаружения. В других вариантах осуществления анализ фармакокинетики введенного реактивного к амилоиду реагента или красителя может обеспечить информацию о подходящем времени введения реактивного к амилоиду реагента или красителя. Идентифицируя области, регионы или участки на изображении, которые коррелируют с присутствием радиоактивно меченного белка можно определить наличие или отсутствие амилоидов. Например, в некоторых вариантах осуществления идентификация областей или участков, в которых концентрируется реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения, указывает на присутствие амилоидов. В некоторых вариантах осуществления для диагностики амилоидоза у индивидуума используют изображения, которые коррелируют с наличием реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает диагностику типа амилоидоза на основе профиля распределения по органам. В некоторых вариантах осуществления конкретный профиль распределения по органам указывает на конкретный тип амилоидоза. Например, в некоторых вариантах осуществления для диагностики АТТР используют отношение сердца к селезенке, сердца к печени, селезенки к печени, селезенки к почке, почки к сердцу или почки к печени. В некоторых вариантах осуществления для диагностики АLECT2 используют отношение сердца к селезенке, сердца к печени, селезенки к печени, селезенки к почке, почки к сердцу или почки к печени. В некоторых вариантах осуществления для диагностики AL используют отношение сердца к селезенке, сердца к печени, селезенки к печени, селезенки к почке, почки к сердцу или почки к печени.

В некоторых вариантах осуществления разные типы амилоидозов имеют разное относительное отношение органа к органу. В некоторых вариантах осуществления один конкретный тип амилоидоза может иметь более высокое отношение печени к сердцу, чем другой. В некоторых вариантах осуществления отношение сердца к селезенке у индивидуумов с диагнозом ААТТР выше, чем отношение сердца к селезенке у индивидуумов с диагнозом AL. В некоторых вариантах осуществления отношение сердца к селезенке у индивидуумов с диагнозом АТТТР выше, чем отношение сердца к селезенке у индивидуумов с диагнозом АLECT2. В некоторых вариантах осуществления, если

отношение сердца к селезенке превышает 1, у индивидуума диагностируют АТТР. В некоторых вариантах осуществления, если отношение сердца к селезенке выше 1,2, выше 1,3, выше 1,4 или выше 1,5, у индивидуума диагностируют АТТР. В некоторых вариантах осуществления, если отношение сердца к селезенке ниже 1,5, у индивидуума диагностируют АL или АLECT2. В некоторых вариантах осуществления, если отношение сердца к селезенке ниже 1,4, ниже 1,3, ниже 1,3 или ниже 1, у индивидуума диагностируют АL или АLECT2.

В некоторых вариантах осуществления отношение сердца к почке используется для диагностики типа амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления отношение сердца к почке выше у индивидуумов с диагнозом АТТР, чем отношение сердца к почке у индивидуумов с диагнозом АL. В некоторых вариантах осуществления отношение сердца к почке выше у индивидуумов с диагнозом АLECT2. В некоторых вариантах осуществления, если отношение сердца к почке выше 1, у индивидуума диагностируют АТТР. В некоторых вариантах осуществления, если отношение сердца к почке выше 1,2, выше 1,3, выше 1,4, выше 1,5, выше 1,6 или выше 1,8, у индивидуума диагностируют АТТР. В некоторых вариантах осуществления, если отношение сердца к почке ниже 1,8, у индивидуума диагностируют АL или АLECT2. В некоторых вариантах осуществления, если отношение сердца к почкам ниже 1,6, ниже 1,5, ниже 1,4 или ниже 1, у индивидуума диагностируют АL или АLECT2.

В некоторых вариантах осуществления отношение сердца к печени используется для диагностики типа амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления отношение сердца к печени выше у индивидуумов с диагнозом АТТР, чем отношение сердца к почке у индивидуумов с диагнозом АL. В некоторых вариантах осуществления отношение сердца к печени выше у индивидуумов с диагнозом АLECT2. В некоторых вариантах осуществления, если отношение сердца к печени превышает 1, у индивидуума диагностируют АТТР. В некоторых вариантах осуществления, если отношение сердца к печени составляет выше 1,6, выше 1,8, выше 2,0, выше 2,2 или выше 2,3, у индивидуума диагностируют АТТР. В некоторых вариантах осуществления, если отношение сердца к печени ниже 2,3, у индивидуума диагностируют АL или АLECT2. В некоторых вариантах осуществления, если отношение сердца к печени ниже 2,2, ниже 2,0, ниже 1,8 или ниже 1,6, у индивидуума диагностируют АL или АLECT2.

В некоторых вариантах осуществления отношение печени к селезенке используется для диагностики типа амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления, если отношение печени к селезенке превышает 0,7, у индивидуума диагностируют АТТР. В некоторых вариантах осуществления, если отношение печени к селезенке выше 0,8, выше 0,9, выше 1,0 или выше 1,2, у индивидуума диагностируется АТТР. В некоторых вариантах осуществления, если отношение печени к селезенке ниже 1,2, у индивидуума диагностируют АL или АLECT2. В некоторых вариантах осуществления, если отношение сердца к печени ниже 0,9, ниже 0,8 или ниже 1,7, у индивидуума диагностируют АL или АLECT2.

В некоторых вариантах осуществления, если отношение печени к сердцу выше 0,3, у индивидуума диагностируют AL. В некоторых вариантах осуществления, если отношение печени к сердцу выше 0,4, выше 0,5, выше 0,6 или выше 0,7, у индивидуума диагностируют AL. В некоторых вариантах осуществления, если отношение печени к сердцу ниже 0,3, у индивидуума диагностируют ATTR или ALECT2. В некоторых вариантах осуществления, если отношение печени к сердцу ниже 0,4, ниже 0,6 или ниже 0,7, у индивидуума диагностируют ATTR или ALECT2.

В некоторых вариантах осуществления, если отношение селезенки к сердцу превышает 0,5, у индивидуума диагностируют AL. В некоторых вариантах осуществления, если отношение селезенки к сердцу выше 0,6, выше 0,7 или выше 0,8, у индивидуума диагностируют AL. В некоторых вариантах осуществления, если отношение селезенки к сердцу ниже 0,5, у индивидуума диагностируют ATTR или ALECT2. В некоторых вариантах осуществления, если отношение селезенки к сердцу ниже 0,6, ниже 0,7 или ниже 0,8, у индивидуума диагностируют ATTR или ALECT2.

В некоторых вариантах осуществления, если отношение селезенки к печени больше 9, у индивидуума диагностируют AL. В некоторых вариантах осуществления, если отношение селезенки к печени составляет более 10, более 11 или более 12, у индивидуума диагностируют AL. В некоторых вариантах осуществления, если отношение селезенки к печени меньше 9, у индивидуума диагностируют ATTR или ALECT2. В некоторых вариантах осуществления, если отношение селезенки к печени составляет менее 10, менее 11 или менее 12, у индивидуума диагностируют ATTR или ALECT2.

В некоторых вариантах осуществления, если отношение почки к сердцу превышает 0,5, у индивидуума диагностируют AL. В некоторых вариантах осуществления, если отношение почки к сердцу выше 0,6, выше 0,7 или выше 0,8, у индивидуума диагностируют AL. В некоторых вариантах осуществления, если отношение почки к сердцу составляет менее 0,5, у индивидуума диагностируют ATTR или ALECT2. В некоторых вариантах осуществления, если отношение почки к сердцу составляет менее 0,6, менее 0,7 или менее 0,8, у индивидуума диагностируют ATTR или ALECT2.

В некоторых вариантах осуществления отношение органа к органу основано на стандартном отношении показателей поглощения (SUVR). В некоторых вариантах осуществления SUVR рассчитывают с использованием пула крови в качестве эталонной ткани. В некоторых вариантах осуществления SUVR рассчитывают для каждого органа путем деления количества агента для обнаружения амилоида или красителя в органе на отношение для пула крови. В некоторых вариантах осуществления пул крови представляет собой вену или артерию. В некоторых вариантах осуществления пул крови представляет собой просвет грудной аорты.

В некоторых вариантах осуществления уровень реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в сердце является самым высоким у индивидуумов с ATTR. В некоторых вариантах осуществления уровень реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в печени является самым высоким у людей с AL. В некоторых вариантах

осуществления уровень реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения является самым высоким в селезенке у людей с ALECT2. В некоторых вариантах осуществления уровень реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения является самым высоким в почках у людей с ALECT2.

В некоторых вариантах осуществления уровень реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения является самым низким в сердце у индивидуумов с ALECT2. В некоторых вариантах осуществления уровень реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в печени самый низкий у индивидуумов с ATTR. В некоторых вариантах осуществления уровень реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в селезенке самый низкий у индивидуумов с ATTR. В некоторых вариантах осуществления уровень реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в почках самый низкий у индивидуумов с ATTR.

В некоторых вариантах осуществления пороговое значение для диагностики конкретного типа амилоидоза выбрано на основе определенного р-значения. В некоторых вариантах осуществления пороговое значение выбрано для обеспечения р-значения менее 0,1, менее 0,05, менее 0,01, менее 0,005 или менее 0,001.

В некоторых вариантах осуществления пороговое значение для диагностики конкретного типа амилоидоза выбрано на основе желаемой чувствительности. В некоторых вариантах осуществления пороговое значение выбрано для обеспечения чувствительности по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95%.

В некоторых вариантах осуществления пороговое значение выбрано на основе желаемой специфичности (т.е. способности дифференцировать различные типы амилоидозов). В некоторых вариантах осуществления пороговое значение выбрано для обеспечения специфичности по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95%.

Специалисту в данной области техники будет понятно, что каждое из обсуждаемых в данном документе отношений может быть легко преобразовано в обратное. Например, отношение сердца к селезенке 2:1 (2) соответствует соотношению селезенки к сердцу 1:2 (0,5).

II. Способы лечения

Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к способам лечения амилоидоза, основанным на профиле распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ лечения амилоидоза, включающий введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения, определение распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения и выбор лечения в зависимости от типа заболевания.

В некоторых вариантах осуществления способы лечения амилоидоза включают

введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения и определение профиля распределения реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в одном или более органах. В некоторых вариантах осуществления профиль распределения реактивного к амилоиду агента или красителя в органах указывает на тип амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают выбор лечения в зависимости от типа амилоидоза.

В некоторых вариантах осуществления способ включает получение профиля распределения по органам реактивного к амилоиду реагента или красителя для обнаружения, при этом профиль распределения по органам указывает на конкретный тип амилоидоза, и введение лечения, основанного на амилоидозе.

В некоторых вариантах осуществления способы лечения амилоидоза включают введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения, содержащего реактивный к амилоиду пептид. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения включают пептид, слитый белок, низкомолекулярное соединение или антитело, или фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления способы лечения амилоидоза включают введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения, содержащего реактивный к амилоиду пептид. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду пептид представляет собой пептид с аминокислотной последовательностью, указанной в виде любой из SEQ ID NO: 1-14. В некоторых вариантах осуществления способы лечения амилоидоза включают реактивный к амилоиду пептид с аминокислотной последовательностью, указанной в SEQ ID NO:13.

В некоторых вариантах осуществления способы лечения амилоидоза включают введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения, содержащего обнаруживаемую метку, для определения профиля распределения по органам. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения содержат флуоресцентную метку, хемилюминесцентную метку или радиоактивную метку. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения содержат радиоактивную метку. В некоторых вариантах осуществления радиоактивно меченный реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения представляет собой ^{124}I -p5+14. В других вариантах осуществления радиоактивно меченный реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения представляет собой флорбетапир, флортабен или флутеметамол. В некоторых вариантах осуществления способы лечения амилоидоза включают p5+14. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент метят радиоактивным изотопом. В некоторых вариантах осуществления радиоактивная метка представляет собой ^{11}C , ^{18}F , ^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, и ^{123}I , ^{124}I , или ^{125}I . В некоторых вариантах осуществления радиоактивно меченый реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения представляет собой радиоактивно меченный реактивный к амилоиду пептид. В некоторых вариантах осуществления радиоактивно меченный реактивный к амилоиду пептид представляет собой меченный ^{124}I реактивный к

амилоиду пептид. В других вариантах осуществления способ диагностики типа амилоидоза включает введение $^{124}\text{I-p5+14}$. В других вариантах осуществления радиоактивно меченный реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения представляет собой флорбетапир, флортабен или флутеметамол.

В некоторых других вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения содержат флуоресцентную метку. В некоторых вариантах осуществления флуоресцентно меченный реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения представляет собой ThT. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения вводят парентерально, вблизи опухоли, через слизистую оболочку, трансдермально, внутримышечно, внутривенно, внутривожно, подкожно, внутрибрюшинно, внутрижелудочно или внутричерепно. В некоторых случаях реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения вводят внутривенно или внутрибрюшинно.

В некоторых вариантах осуществления способы лечения амилоидоза измеряют в органе, характеризующем профиль распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в одном или более органах. В некоторых вариантах осуществления способы лечения типа амилоидоза включают определение профиля распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в одном или более органах: сердце, селезенка, печень, почки, периферические нервы, желудочно-кишечный тракт, мышцы, легкие, головной мозг и лимфатические узлы. В некоторых вариантах осуществления один или более органов представляют собой абдоминально-торакальные органы. В некоторых вариантах осуществления один или более органов представляют собой сердце, селезенку, печень или почки. В некоторых вариантах осуществления стадия определения профиля распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в одном или более органах включает определение показателя поглощения каждым органом. В некоторых вариантах осуществления показатель поглощения органом является стандартным показателем поглощения для каждого органа. В некоторых вариантах осуществления стандартный показатель поглощения определяется как отношение количества реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения, обнаруженного в органе, и количества реактивного для амилоида агента или красителя для обнаружения, обнаруженного в крови. В некоторых вариантах осуществления показатель поглощения органом указывает на профиль распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения.

В других вариантах осуществления стадия измерения профиля распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в одном или более органах включает расчет отношения органа к органу для двух или более органов. В некоторых вариантах осуществления стадия вычисления отношения органа к органу для двух или более органов включает вычисление соотношения между показателем поглощения органом для первого органа и показателем поглощения органом для второго органа. В некоторых случаях отношение органа к органу выбрано из группы, состоящей из

печени к сердцу, селезенки к сердцу, селезенки к печени, селезенки к почкам, почки к сердцу и почки к печени. В некоторых случаях отношение органа к органу равно отношению сердца к селезенке. В некоторых вариантах осуществления отношение является обратным любому из этих отношений.

В некоторых вариантах осуществления определение профиля распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения включает анализ данных визуализации, полученных с помощью ПЭТ, КТ, МРТ, ОФЭКТ, ПЭТ/КТ, ПЭТ/МРТ или других методов визуализации. В некоторых вариантах осуществления стадия определения профиля распределения по органам реактивного к амилоиду реагента или красителя для обнаружения включает анализ изображений по пространственному расположению представляющих интерес областей.

В некоторых вариантах осуществления профиль распределения по органам указывает на тип амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления модель распределения по органам используется для выбора конкретного лечения на основе типа амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает диагностику типа амилоидоза на основе профиля распределения по органам. В некоторых вариантах осуществления конкретный профиль распределения по органам указывает на конкретный тип амилоидоза. Например, в некоторых вариантах осуществления для диагностики ATTR используют отношение сердца к селезенке, сердца к печени, селезенки к печени, селезенки к почке, почки к сердцу или почки к печени. В некоторых вариантах осуществления для диагностики ALECT2 используют отношение сердца к селезенке, сердца к печени, селезенки к печени, селезенки к почке, почки к сердцу или почки к печени. В некоторых вариантах осуществления для диагностики AL используют отношение сердца к селезенке, сердца к печени, селезенки к печени, селезенки к почке, почки к сердцу или почки к печени.

В некоторых вариантах осуществления способ включает лечение или выбор лечения системного амилоидоза. Некоторые примеры амилоидозов, которые можно диагностировать и/или лечить описанными в данном документе способами, включают, но не ограничиваются ими, AA-амилоидоз, AL-амилоидоз, AN-амилоидоз, A β -амилоидоз, ATTR-амилоидоз, ALECT2-амилоидоз и IAPP-амилоидоз диабета II типа, болезнь Альцгеймера, опухоли щитовидной железы, болезнь Паркинсона, таупатию, старческий системный амилоидоз, семейный гемодиализ, старческое системное старение, старческое гипофизарное расстройство, ятрогенный синдром, реактивное хроническое воспаление, опухоли щитовидной железы, миелому или другие формы злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления способы лечения амилоидоза включают выбор лечения системного амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления способы лечения амилоидоза включают выбор лечения AL-амилоидоза, ATTR-амилоидоза или ALECT2-амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления лечение представляет собой таргетную терапию ATTR-амилоидоза, AL-амилоидоза или ALECT2-амилоидоза.

В некоторых вариантах осуществления лечение представляет собой небольшую

молекулу, антитело, пептид, белок, нуклеиновую кислоту и/или генную терапию. В некоторых вариантах осуществления лечение представляет собой целенаправленное лечение, специфичное для определенного типа амилоидоза.

В некоторых вариантах осуществления лечение представляет собой таргетную терапию АТТТ-амилоидоза, АL-амилоидоза или АLЕСТ2-амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления лечение представляет собой таргетную терапию АТТТ-амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления лечение включает стабилизатор тетрамера ТТТ. В некоторых вариантах осуществления тетрамерный стабилизатор ТТТ представляет собой эпигаллокатехин-3-галлат (EGCG), AG-10, СНF5074, тафадимис или дифлунизал. В некоторых вариантах осуществления лечение включает антитело или его фрагмент, связывающий неправильно свернутый ТТТ. В некоторых вариантах реализации антитело представляет собой PRX004. В некоторых вариантах осуществления лечение включает олигонуклеотид. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид представляет собой сайленсер ТТТ. В некоторых вариантах осуществления сайленсер ТТТ представляет собой патисиран (ALN-TTR02), вутрисиран, инотерсен или АКСЕА-ТТТ-LRx. В некоторых вариантах осуществления лечение включает разрушитель амилоида АТТТ. В некоторых вариантах осуществления лечение включает доксициклин, тауроурсодезоксихолевую кислоту или сывороточный амилоид Р (SAP). В некоторых вариантах осуществления лечение включает трансплантацию органов. В некоторых вариантах осуществления лечение включает трансплантацию печени.

В других вариантах осуществления лечение представляет собой таргетную терапию АL-амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления лечение включает бортеомизиб, иксазомиб или казилфомиб. В некоторых вариантах осуществления лечение включает антитело или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления лечение включает даратумаб, САЕL-101, элотузумаб или белантамаб мафодотин. В некоторых вариантах осуществления лечение включает терапию стволовыми клетками. В некоторых вариантах осуществления лечение включает кортикостероид. В некоторых вариантах осуществления кортикостероид представляет собой дексаметазон.

В некоторых вариантах осуществления способ используют для исключения потенциальной терапии пациента с амилоидозом. В некоторых вариантах осуществления способ используется для диагностики одного типа амилоидоза и исключения терапии других типов амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления способ используется для диагностики АLЕСТ2 и исключения терапии АL- или АТТТ-амилоидоза.

В некоторых вариантах осуществления способ применяют для дифференциации типов амилоидоза с целью разработки видов терапии, специфичных для конкретного типа амилоидоза. Например, в некоторых вариантах осуществления способ используется для идентификации индивидуумов с АLЕСТ2-амилоидозом и разработки терапии, специфичной для АLЕСТ2-амилоидоза.

III. Наборы

В некоторых аспектах изобретения предложены наборы для диагностики или

идентификации типа амилоидоза у индивидуума с помощью описанных в данном документе способов.

В некоторых вариантах осуществления набор включает реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения и инструкции по применению. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения содержат обнаруживаемую метку. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения представляет собой ^{124}I -p5+14. В других вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения представляет собой флорбетапир, флортабен или флутеметамол. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения представляет собой ThT.

В некоторых вариантах осуществления радиоактивная метка представляет собой ^{11}C , ^{18}F , ^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, и ^{123}I , ^{124}I , или ^{125}I . В некоторых вариантах осуществления радиоактивно меченый реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения представляет собой радиоактивно меченный реактивный к амилоиду пептид. В некоторых вариантах осуществления радиоактивно меченный реактивный к амилоиду пептид представляет собой меченный ^{124}I реактивный к амилоиду пептид. В других вариантах осуществления способ диагностики типа амилоидоза включает введение ^{124}I -p5+14. В других вариантах осуществления радиоактивно меченный реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения представляет собой флорбетапир, флортабен или флутеметамол.

В некоторых вариантах осуществления инструкции содержат инструкции по обнаружению реактивного к амилоиду реагента или красителя для обнаружения в одном или более органах. В некоторых вариантах осуществления реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения обнаруживают в крови, сердце, легких, почках или селезенке.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит инструкции по расчету отношения SUVR для одного или более органов. В некоторых вариантах осуществления SUVR рассчитывают с использованием пула крови в качестве эталонной ткани. В некоторых вариантах осуществления SUVR рассчитывают для каждого органа путем деления количества агента для обнаружения амилоида или красителя в органе на отношение для пула крови. В некоторых вариантах осуществления пул крови представляет собой вену или артерию. В некоторых вариантах осуществления пул крови представляет собой просвет грудной аорты.

В некоторых вариантах осуществления инструкции включают инструкции по определению отношения органа к органу. В некоторых вариантах осуществления отношение органа к органу представляет собой отношение печени к сердцу, селезенки к сердцу, селезенки к печени, селезенки к почке, почки к сердцу, почки к печени или обратное любому из этих отношений.

В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит инструкции для постановки диагноза на основе отношения органа к органу.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит терапевтический агент для лечения амилоидоза.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Количественная оценка поглощения $^{124}\text{I-p5+14}$ в органах пациентов, визуализированных с помощью ПЭТ/КТ.

В этом примере описана дифференциация типа амилоида с использованием данных ПЭТ-изображений.

Визуализация амилоидных отложений у пациентов

Изображения позитронно-эмиссионной томографии/рентгеновской компьютерной томографии (ПЭТ/КТ) были получены для пациентов с амилоидозом легкой цепи (AL), транстретин-ассоциированным (ATTR) амилоидозом и ассоциированным с лейкоцитарным хемотаксическим фактором 2 (ALECT2) амилоидозом, включенных в первую когорту из 26 пациентов в рамках фазы 1/2 исследования $^{124}\text{I-p5+14}$. Визуализирующий агент $^{124}\text{I-p5+14}$ представляет собой радиоактивно меченный реактивный к амилоиду полипептид, который можно использовать для визуализации амилоида у субъектов с помощью ПЭТ/КТ. $^{124}\text{I-p5+14}$ можно использовать для обнаружения амилоидных отложений в сердце, печени, селезенке и почках, а данные ПЭТ/КТ-изображений, полученные с использованием $^{124}\text{I-p5+14}$, можно легко оценить количественно.

Определение поглощения органом: кровью

ПЭТ-изображения анализировали вручную с использованием способа анализа представляющей интерес области (ROI). Используя планарные изображения, либо коронарные, аксиальные или сагиттальные, ROI располагали в представляющем интерес органе, используя данные КТ для точного анатомического размещения. Были приняты меры, чтобы избежать областей органа, где присутствуют крупные кровеносные сосуды. ROI была достаточно большой, чтобы охватить среднюю область ткани, или она была сфокусирована на определенной области, анатомической области или представляющей интерес. Регистрировали данные из ROI и определяли среднюю радиоактивность на единицу объема (Бк/см³).

Стандартное отношение показателей поглощения (SUVr) рассчитывали с использованием пула крови в качестве эталонной ткани. Для данного исследования просвет грудной аорты, расположенный непосредственно дистальнее дуги аорты, определенный на КТ-изображении, использовали в качестве ROI пула крови. Определяли радиоактивность тщательно расположенной ROI пула крови (Бк/см³). Затем путем деления радиоактивности ткани на радиоактивность пула крови, получая отношение органа к пулу крови (отношение орган:пул крови) рассчитывали SUVr для каждого органа (сердца, селезенки, печени и левой почки).

Поглощение для отношения орган:кровь рассчитывали для пациентов с AL, ATTR и ALECT2, включенных в первую когорту из 26 пациентов фазы 1/2 исследования $^{124}\text{I-p5+14}$. Показатель поглощения для отношения орган:кровь для когорты пациентов приведены на

Фиг. 2. Анализ средних значений для всех популяций дал отношения, приведенные на **Фиг. 3.** Анализ выявил четкие различия в органоспецифическом поглощении $^{124}\text{I-p5+14}$ для каждой из этих групп пациентов, где:

Сердце - $\text{ATTR} > \text{AL} > \text{ALECT2}$

Печень - $\text{AL} > \text{ALECT2} >> \text{ATTR}$

Селезенка - $\text{ALECT2} > \text{AL} >> \text{ATTR}$

Почка - $\text{ALECT2} > \text{AL} >> \text{ATTR}$

Эти взаимосвязи позволили разработать алгоритм дифференциации AL- от ATTR-амилоидоза.

Дифференциация AL от ATTR

На первой стадии распределение для каждого органа анализировали на нормальность с помощью метрик асимметрии и эксцесса. Затем выпадающие значения, которые были на 3,29 или более стандартных отклонения выше среднего, исключали по списку. На **Фиг. 4** показан набор данных после исключения выпадающих точек данных. Повторный анализ средних значений с использованием данных, исключая выпадения значения, выявил органоспецифические взаимосвязи, показанные на **Фиг. 5.** После удаления выпадающих значений из популяции наблюдались следующие зависимости:

Сердце - $\text{ATTR} > \text{AL} > \text{ALECT2}$

Печень - $\text{ALECT2} > \text{ATTR} > \text{ATTR}$

Селезенка - $\text{ALECT2} >> \text{AL} > \text{ATTR}$

Почка - $\text{ALECT2} > \text{AL} > \text{ATTR}$

На второй стадии оценивали способность отличать AL от ATTR и ATTR от AL с помощью анализа зависимости чувствительности от частоты ложноположительных заключений (ROC). ROC-кривые создавали для AL и ATTR с использованием значений SUVr для отдельных органов и отношений одного органа к другому (первоначально на основе данных, приведенных на **Фиг. 5**). Определяли площадь под кривой (AUC), а также значимость и 95% доверительный интервал (95% ДИ) для AUC. Значения чувствительности и специфичности для оптимального порогового значения, которые позволили бы отличить AL от ATTR, также определяли с использованием имеющегося набора данных.

В **таблице 2** приведены результаты ROC-анализа для ATTR, а на **Фиг. 6** показана ROC-кривая для поглощения сердцем, а на **Фиг. 7A-7F** показаны ROC-кривые для отношения поглощения органом к органу в ATTR. В **таблице 3** обобщены результаты ROC-анализа для AL, а на **Фиг. 7A-7C** показаны ROC-кривые для поглощения отдельными органами, а на **Фиг. 8A-8F** показаны ROC-кривые для отношения поглощения органом к органу при AL.

Таблица 2. Зависимость чувствительности от частоты ложноположительных заключений (ROC) для обнаружения ATTR.

Отношение	AUC	95% ДИ для AUC	p- значение	Пороговое значение	Чувствит ельность	Специфич ность
-----------	-----	-------------------	----------------	-----------------------	----------------------	-------------------

Сердце	0,80	0,60-1,00	0,03	2,50	71,4%	78,6%
Сердце/ Селезенка	0,96	0,87-1,00	0,002	1,40	100%	75%
Сердце/ Печень	0,91	0,74-1,00	0,004	2,27	85,7%	91,7%
Сердце/ Почка	0,92	0,80-1,00	0,003	1,62	100%	81,8%
Печень/ Селезенка	0,88	0,71-1,00	0,013	0,99	83,3%	90,0%
Печень/ Почка	0,60	0,31-0,89	0,50	-	-	-
Почки/ Селезенка	0,75	0,51-1,00	0,10	-	-	-

Таблица 3. Зависимость чувствительности от частоты ложноположительных заключений (ROC) для обнаружения AL.

Отношение	AUC	95% ДИ для AUC	<i>p</i> - значение	Пороговое значение	Чувствите льность	Специфич ность
Печень	0,74	0,52-0,97	0,083	-	-	-
Селезенка	0,90	0,76-1,00	0,007	1,01	83,3%	83,3%
Почка	0,74	0,51-0,97	0,094	-	-	-
Печень/ Сердце	0,91	0,74-1,00	0,004	0,47	83,3%	85,7%
Селезенка/ Сердце	0,96	0,87-1,00	0,002	0,56	83,3%	83,3%
Селезенка/ Печень	0,88	0,71-1,00	0,013	10,6	80,0%	83,3%
Селезенка/ Почка	0,75	0,51-1,00	0,10	-	-	-
Почки/ Сердце	0,92	0,80-1,00	0,003	0,63	81,1%	100,0%
Почки/ Печень	0,60	0,31-0,89	0,50	-	-	-

Для выявления пациентов с ATTR расчет отношения SUVR сердца к селезенке является оптимальным способом с $p=0,002$ и AUC 0,96. Использование порогового значения 1,40 дает чувствительность 100 и специфичность 75% для диагностики ATTR.

Отношение SUVR сердца к почке обеспечивало такие же хорошие прогностические значения с несколько более высокой специфичностью.

Среднее отношение SUVR сердца к селезенке у пациентов с ATTR выше, чем отношение SUVR сердца к селезенке у пациентов с AL. Кроме того, на основании ограниченных данных для пациентов с ALECT2 ожидается, что это отношение будет намного ниже при ALECT2, чем при AL, что позволяет предположить, что с большим количеством точек данных можно будет дифференцировать AL от ALECT2. Основываясь на нашем имеющемся наборе данных для пациентов с AL, ATTR и ALECT2, используя односторонний ANOVA с множественными сравнениями, SUVR селезенки у пациентов с ALECT2 значительно выше, чем у пациентов с AL ($p=0,02$) и ATTR ($p=0,002$).

Результаты этих анализов демонстрируют, что либо значение SUVR для отдельного органа, либо, точнее, отношение органа к органу, такое как отношение SUVR сердца к селезенке или отношение SUVR сердца к почке, можно использовать для дифференциации ATTR-амилоидоза от AL-амилоидоза и потенциально дифференцировать ALECT2-амилоидоз от AL- и ATTR-амилоидоза.

Выводы

Полученные данные визуализации использовали для определения отношения количества амилоидов сердца к количеству амилоидов селезенки, которое можно использовать для различения амилоидов AL, ATTR и ALECT2. Поскольку пациенты с AL (как популяция) имеют поражение сердца и селезенки, отношение количества амилоидов в сердце к количеству амилоидов в селезенке составляет около 1. У пациентов с ATTR амилоидами поражено сердце, но не селезенка, поэтому отношение больше 1. У пациентов с ALECT2 большое количество амилоида в селезенке и очень мало (если вообще есть) амилоида в сердце, поэтому отношение намного меньше 1. На основе анализа текущей популяции пациентов расчет отношения сердца к селезенке может быть использован для определения, с некоторым статистическим уровнем достоверности (например, $>90\%$, $>80\%$ и т.д.), какого типа амилоид у пациента.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ диагностики типа амилоидоза, включающий введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения индивидууму; и определение профиля распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в одном или более органах индивидуума, при этом профиль распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения указывает на тип амилоидоза.
2. Способ лечения амилоидоза, включающий введение реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения индивидууму; и определение профиля распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в одном или более органах индивидуума, при этом профиль распределения по органам реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения указывает на тип амилоидоза; и выбор лечения в зависимости от типа амилоидоза.
3. Способ диагностики типа амилоидоза, включающий получение данных о профиле распределения по органам реактивного к амилоиду реактива или красителя для обнаружения у индивидуума; и расчет соотношения показателей между органами для двух или более органов, при этом соотношение показателей между органами применяется для диагностики типа амилоидоза у индивидуума.
4. Способ по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что тип амилоидоза включает системный амилоидоз.
5. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что тип амилоидоза выбран из группы, состоящей из амилоидоза легких цепей (AL), транстиретин-ассоциированного амилоидоза (ATTR) и ALCT2.
6. Способ по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что орган выбран из группы, состоящей из сердца, селезенки, почки и печени.
7. Способ по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что реактивный к амилоиду агент представляет собой реактивный к амилоиду пептид, который помечен обнаруживаемой меткой.
8. Способ по п. 7, отличающийся тем, что реактивный к амилоиду пептид включает аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 13 или SEQ ID NO: 14.
9. Способ по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что реактивный к амилоиду агент вступает в реакцию с A β фибриллами.
10. Способ по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что реактивный к амилоиду агент вступает в реакцию с синтетическими фибриллами, состоящими из легких цепей или их фрагментов.

11. Способ по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что реактивный к амилоиду агент выбран из группы, состоящей из флорбетапира, флорбетабена и флутеметамола.

12. Способ по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что краситель для обнаружения представляет собой ThT.

13. Способ по любому из пп. 1-12, отличающийся тем, что профиль распределения по органам определяют с использованием ПЭТ/КТ-изображений.

14. Способ по любому из пп. 1-13, отличающийся тем, что реактивный к амилоиду агент содержит радиоактивную метку.

15. Способ по любому из пп. 1-14, отличающийся тем, что рассчитывают соотношение содержания реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в органах и в крови.

16. Способ по любому из пп. 1-15, отличающийся тем, что рассчитывают соотношение содержания реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения между органами.

17. Способ по п. 16, отличающийся тем, что соотношение показателей между органами выбрано из группы, состоящей из печени и сердца, селезенки и сердца, селезенки и печени, селезенки и почки, почки и сердца, а также почки и печени.

18. Способ по п. 17, отличающийся тем, что соотношение показателей между органами представляет собой соотношение показателей в сердце и селезенке.

19. Способ по п. 18, отличающийся тем, что, если соотношение показателей в сердце и селезенке превышает 1,4, у индивидуума диагностируют ATTR-амилоидоз.

20. Способ по любому из пп. 1-19, дополнительно включающий проведение лечения индивидууму.

21. Набор для диагностики типа амилоидоза, содержащий реактивный к амилоиду агент или краситель для обнаружения и инструкцию по применению.

22. Набор по п. 21, отличающийся тем, что инструкция по применению включает способ диагностики, представленный в данном документе.

23. Набор по п. 21 или п. 22, отличающийся тем, что набор предназначен для обнаружения или диагностики системного амилоидоза.

24. Набор по любому из пп. 21-23, отличающийся тем, что набор предназначен для выявления или диагностики амилоидоза легких цепей (AL), транстретин-ассоциированного амилоидоза (ATTR) или ALECT2.

25. Набор по любому из пп. 21-24, отличающийся тем, что реактивный к амилоиду агент представляет собой реактивный к амилоиду пептид, который помечен обнаруживаемой меткой.

26. Набор по п. 25, отличающийся тем, что реактивный к амилоиду пептид включает аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 13 или SEQ ID NO: 14.

27. Набор по любому из пп. 21-26, отличающийся тем, что реактивный к амилоиду агент вступает в реакцию с A β фибриллами.

28. Набор по любому из пп. 21-27, отличающийся тем, что реактивный к амилоиду агент вступает в реакцию с синтетическими фибриллами, состоящими из легких цепей или их фрагментов.

29. Набор по любому из пп. 21-28, отличающийся тем, что реактивный к амилоиду агент выбран из группы, состоящей из флорбетапира, флорбетабена и флутеметамола.

30. Набор по любому из пп. 21-29, отличающийся тем, что краситель для обнаружения представляет собой ThT.

31. Набор по любому из пп. 21-30, содержащий инструкцию по определению профиля распределения по органам.

32. Набор по любому из пп. 21-31, отличающийся тем, что реактивный к амилоиду агент содержит радиоактивную метку.

33. Набор по любому из пп. 21-32, содержащий инструкцию по расчету соотношения содержания для реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения в органе и в крови.

34. Набор по любому из пп. 21-33, содержащий инструкцию по расчету соотношения содержания реактивного к амилоиду агента или красителя для обнаружения между органами.

35. Набор п. 34, отличающийся тем, что соотношение показателей между органами выбрано из группы, состоящей из печени и сердца, селезенки и сердца, селезенки и печени, селезенки и почки, почки и сердца, а также почки и печени.

36. Набор по п. 35, содержащий инструкцию по постановке диагноза ATTR-амилоидоза, если соотношение показателей в сердце и селезенке превышает 1,4.

37. Набор по любому из пп. 21-36, содержащий инструкцию по проведению лечения индивидууму на основании диагноза.

38. Набор по любому из пп. 21-37, дополнительно содержащий терапевтический агент для лечения определенного типа амилоида.

По доверенности

Фибрилльный белок	Белок-предшественник	Системный и/или локализованный	Приобретенный или наследственный	Целевые органы
AL	Легкая цепь иммуноглобулина	S,L	A,H	Все органы, как правило, кроме ЦНС
AH	Тяжелая цепь иммуноглобулина	S,L	A	Все органы, кроме ЦНС
AA	(Аро) Сывороточный амилоид А	S	A	Все органы, кроме ЦНС
ATTR	Транстретин дикого типа	S	A	Сердце в основном у мужчин, Легкие, Связки, Теносиновий
Aβ2M	Транстретин, варианты	S	H	ПНС, АНС, сердце, глаз, лептомен.
	β2-микроглобулин дикого типа	S	A	Костно-мышечная система
AApoAI	β2-микроглобулин, вариант	S	H	ANS
	Аполипопротеин А I, варианты	S	H	Сердце, печень, почки, ПНС, яички, гортань (С-концевые варианты), кожа (С-концевые варианты)
AApoAII	Аполипопротеин А II, варианты	S	H	Почка
AApoAIV	Аполипопротеин А IV, дикий тип	S	A	Мозговое вещество почек и системный
AApoCII	Аполипопротеин С II, варианты	S	H	Почка
AApoCIII	Аполипопротеин С III, варианты	S	H	Почка
Agel	Гельозин, варианты	S	H	ПНС, роговица
ALys	Лизоцим, варианты	S	H	Почка
ALECT2	Лейкоцитарный хемотаксический фактор-2	S	A	Почки, в первую очередь
AFib	Фибриноген α, варианты	S	H	Почки, в первую очередь
ACys	Цистатин С, варианты	S	H	ПНС, Кожа
ABri	ABriPP, варианты	S	H	ЦНС
ADan*	ADanPP, варианты	L	H	ЦНС
Aβ	Предшественник белка Aβ дикого типа	L	A	ЦНС
	Предшественник белка Aβ, вариант	L	H	ЦНС
AαSyn	α-синуклеин	L	A	ЦНС
ATau	Tau	L	A	ЦНС
APrP	Прионный белок дикого типа	L	A	Болезнь Крейтцфельда – Якоба, фатальная бессонница
	Варианты прионного белка	L	H	Болезнь Крейтцфельда – Якоба, синдром GSS, фатальная бессонница
	Вариант прионного белка	S	H	ПНС
ACal	(Про)кальцитонин	L	A	С-клеточные опухоли щитовидной железы
AIApp	Островковый амилоидный полипептид**	L	A	Острова Лангерганса, инсулиномы
AANF	Предсердный натрийуретический фактор	L	A	Предсердие сердца
APro	Пролактин	L	A	Пролактиномы гипофиза, старение гипофиза
AIns	Инсулин	L	A	ятrogenное, местная инъекция
ASPC***	Белок сурфактанта легких	L	A	Лепкое
AGal7	Галектин-7	L	A	Кожа
ACor	Корнеодесмосин	L	A	Ороговевающий эпителий, волосные фолликулы
AMed	Лактадгерин	L	A	Сенильная срединная оболочка аорты
AKer	Керато-эпителин	L	A	Роговица, наследственная
ALac	лактоферрин	L	A	Роговица
AOAAP	Ассоциированный с одонтогенным амелобластом белок	L	A	Одонтогенные опухоли
ASem1	Семеногелин 1	L	A	Семенные везикулы
AEnf	Энфувиртид	L	A	ятrogenное
ACatK****	Катепсин К	L	A	Ассоциированное с опухолью

Фиг. 1

	1	2	3	4
Отношение орган:кровь	сердце	печень	селезенка	левая почка
P1 AL	2,79	1,92	26,48	7,64
P2 AL	2,59	1,57	1,49	2,20
P3 AL	1,70	0,75	0,80	0,79
P6 AL	2,74	1,35	7,17	2,00
P7 AL	2,15	5,73	6,46	3,05
P9 AL	1,13	1,04	1,10	0,90
P10 AL	1,81	9,58	5,87	4,94
P11 AL	1,41	1,06	27,78	2,31
P12 AL	1,41	1,75	2,41	1,56
P15 AL	2,21	1,52	3,73	1,66
P16 AL	2,39	1,36	2,16	4,90
P17 AL	2,49	1,04	1,36	1,13
P20 AL	0,96	0,97	1,07	1,31
P22 AL	0,94	0,90	0,95	1,46
Среднее	1,98	2,28	6,76	2,65
Станд. откл.	0,62	2,53	9,30	2,02

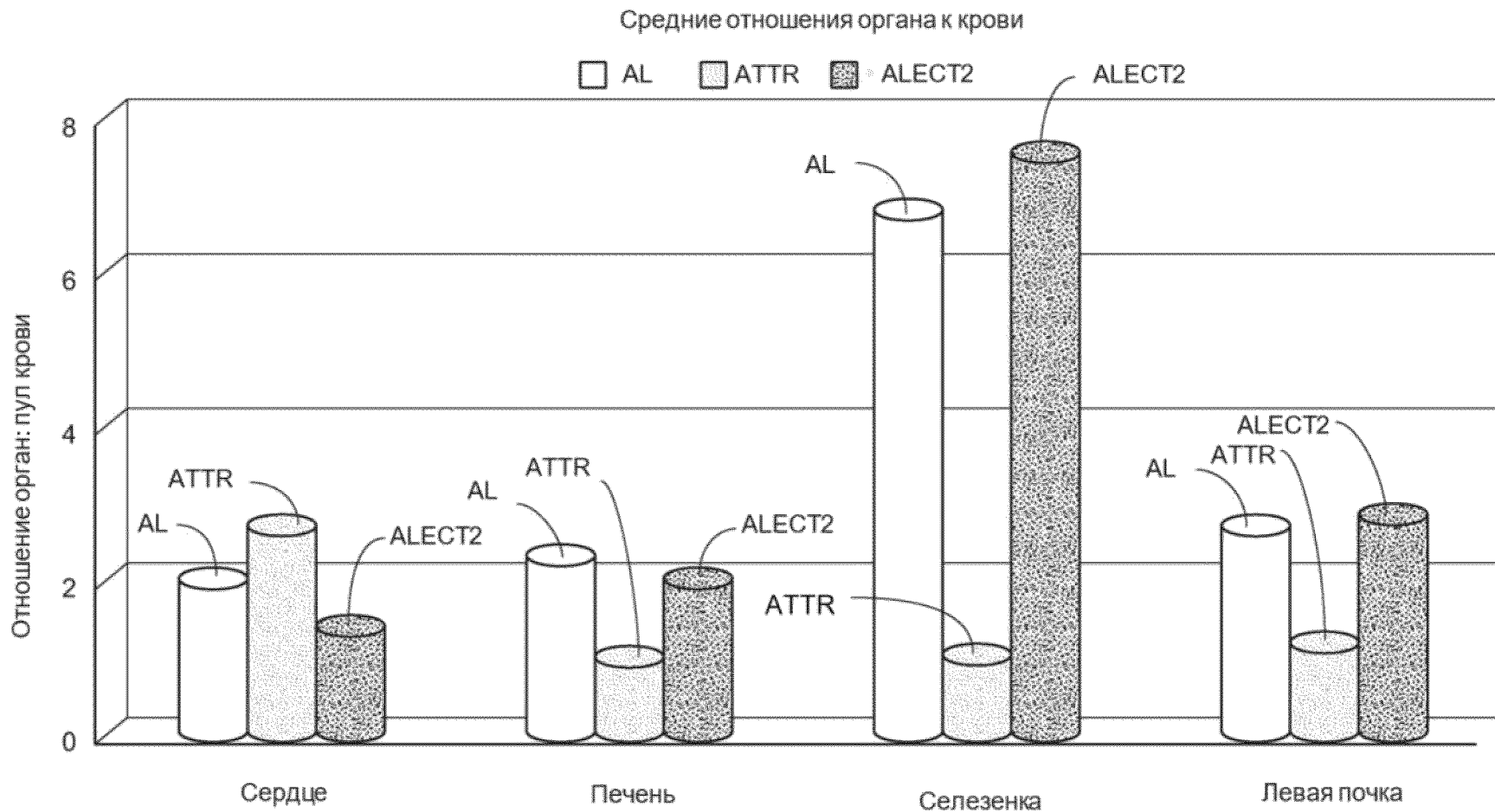
Фиг. 2А

	1	2	3	4
Отношение орган:кровь	сердце	печень	селезенка	левая почка
P4 ATTR	2,58	0,99	0,94	1,01
P8 ATTR	3,35	1,25	1,48	1,63
P13 ATTR	3,01	0,80	0,90	1,19
P14 ATTR	1,84	0,81	0,74	0,60
P21 ATTR	2,51	0,88	0,86	1,35
P25 ATTR	2,82	0,98	0,78	1,21
P26 wtATTR	1,95	1,35	1,15	0,99
Среднее	2,66	0,95	0,98	1,16
Станд. откл.	0,57	0,18	0,29	0,38

Фиг. 2В

	1	2	3	4
Отношение орган:кровь	сердце	печень	селезенка	левая почка
P5 ALECT2	1,14	1,48	8,52	3,24
P19 ALECT	1,54	2,50	6,50	2,37
Среднее	1,34	1,99	7,51	2,81
Станд. откл.	0,28	0,72	1,43	0,61

Фиг. 2С



Фиг. 3

Отношение
орган:кровь

	1	2	3	4
	сердце	печень	селезенка	левая почка
P1 AL	2,79	1,92		
P2 AL	2,59	1,57	1,49	2,2
P3 AL	1,7	0,75	0,8	0,79
P6 AL	2,74	1,35	7,17	2
P7 AL	2,15		6,46	3,05
P9 AL	1,13	1,04	1,1	0,9
P10 AL	1,81		5,87	
P11 AL	1,41	1,06		2,31
P12 AL	1,41	1,75	2,41	1,56
P15 AL	2,21	1,52	3,73	1,66
P16 AL	2,39	1,36	2,16	
P17 AL	2,49	1,04	1,36	1,13
P20 AL	0,96	0,97	1,07	1,31
P22 AL	0,94	0,9	0,95	1,46
Среднее	1,98	1,30	3,06	1,69
Станд. откл.	0,62	0,36	2,37	0,71

Фиг. 4А

Отношение
орган:кровь

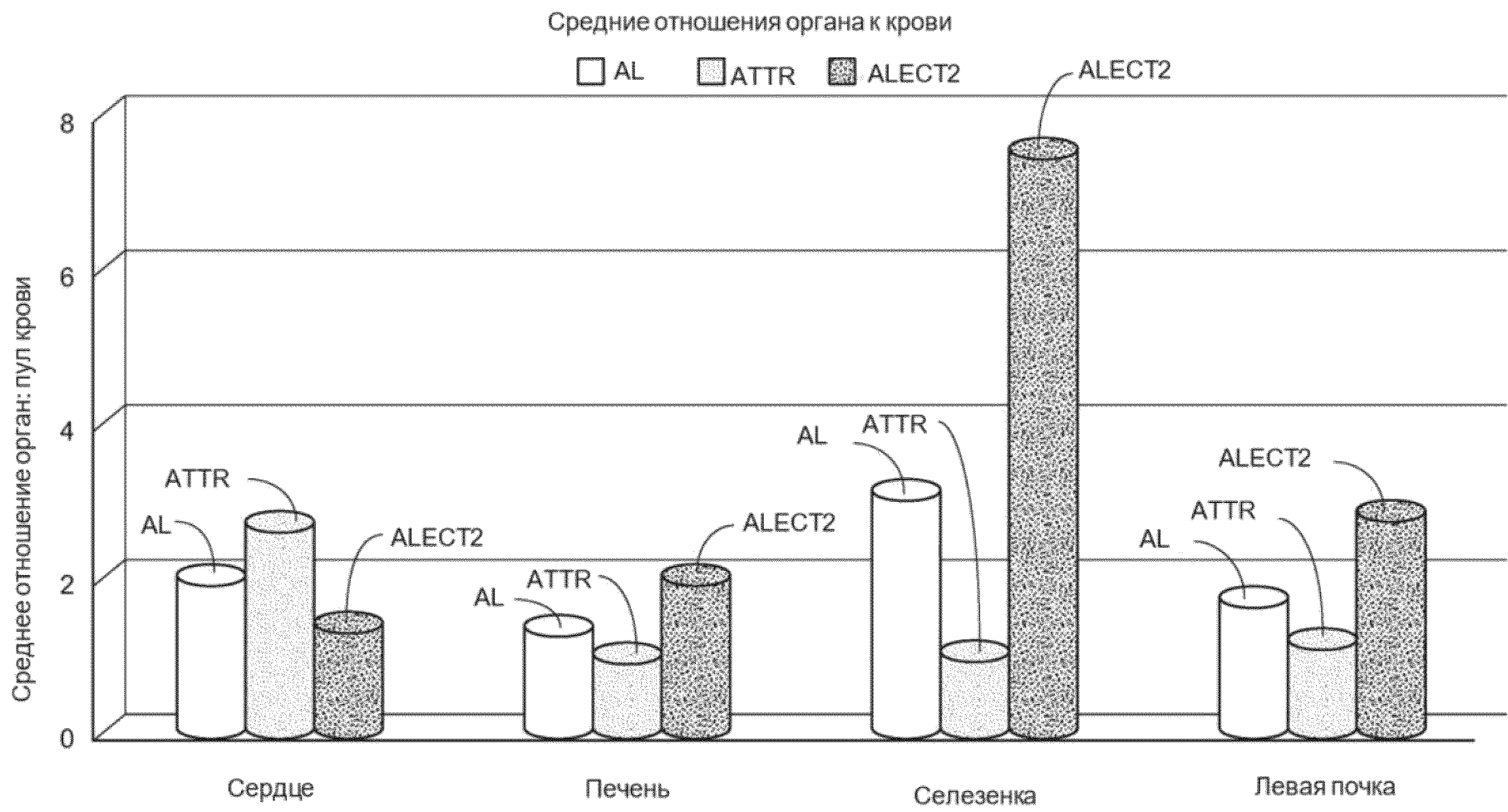
	1	2	3	4
	сердце	печень	селезенка	левая почка
P4 ATTR	2,58	0,99	0,94	1,01
P8 ATTR	3,35	1,25	1,48	1,63
P13 ATTR	3,01	0,8	0,9	1,19
P14 ATTR	1,84	0,81	0,74	0,6
P21 ATTR	2,51	0,88	0,86	1,35
P25 ATTR	2,82	0,98	0,78	1,21
P26 wtATTR	1,95	1,35	1,15	0,99
Среднее	2,66	0,95	0,98	1,16
Станд. откл.	0,57	0,19	0,29	0,39

Фиг. 4В

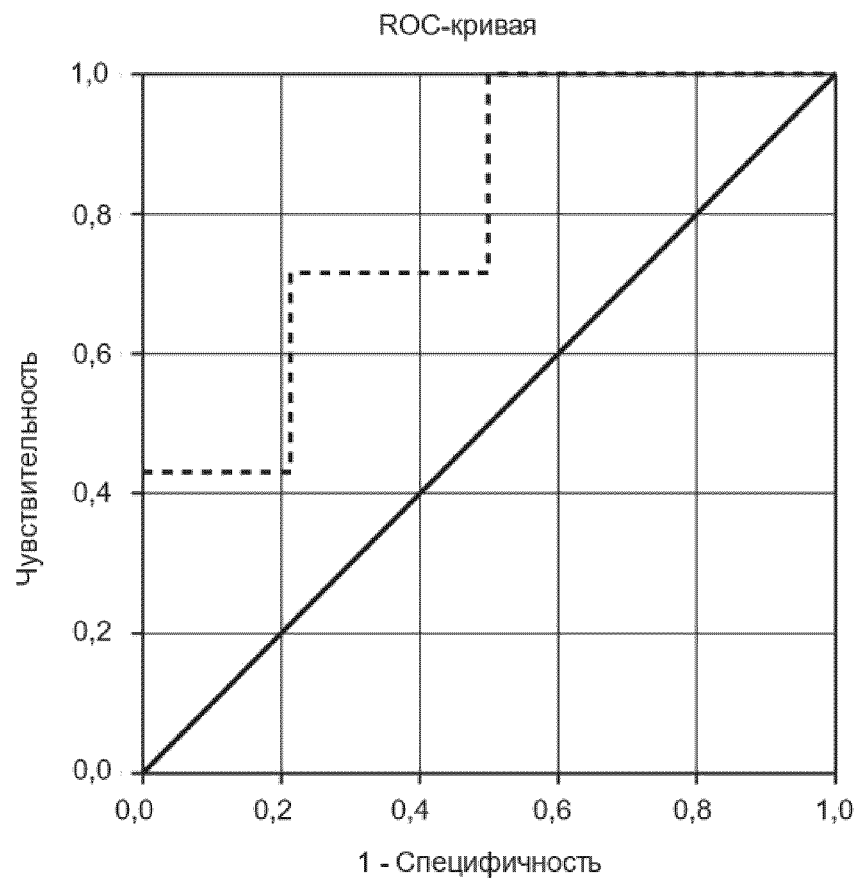
Отношение
орган:кровь

	1	2	3	4
	сердце	печень	селезенка	левая почка
P5 ALECT2	1,14	1,48	8,52	3,24
P19 ALECT	1,54	2,50	6,50	2,37
Среднее	1,34	1,99	7,51	2,81
Станд. откл.	0,28	0,72	1,43	0,61

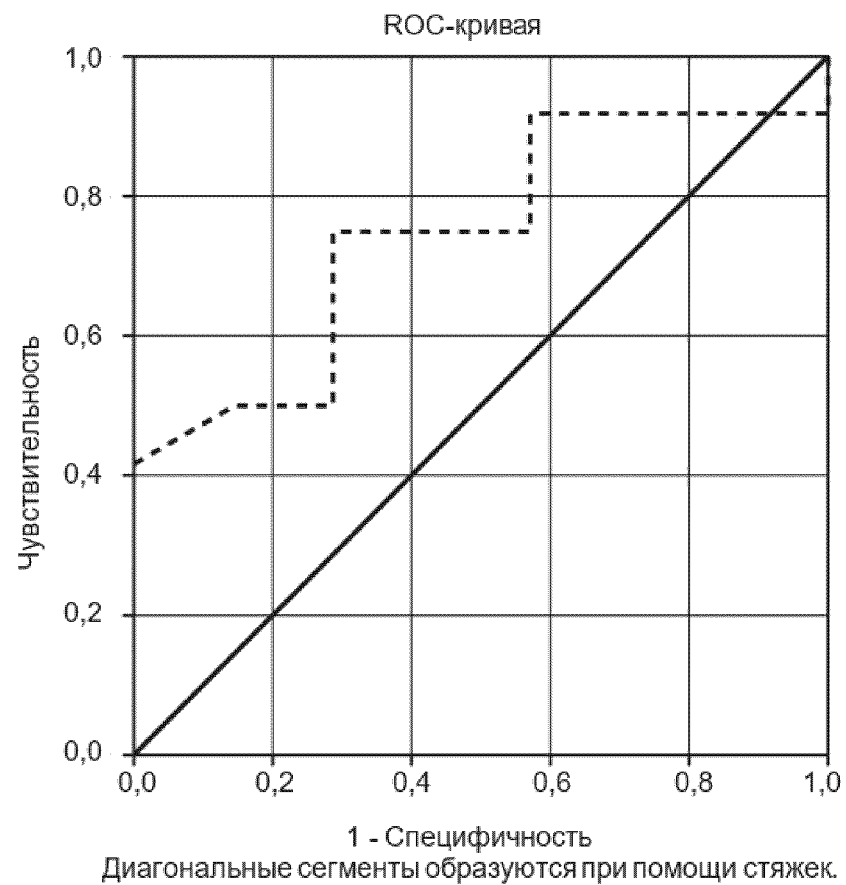
Фиг. 4С



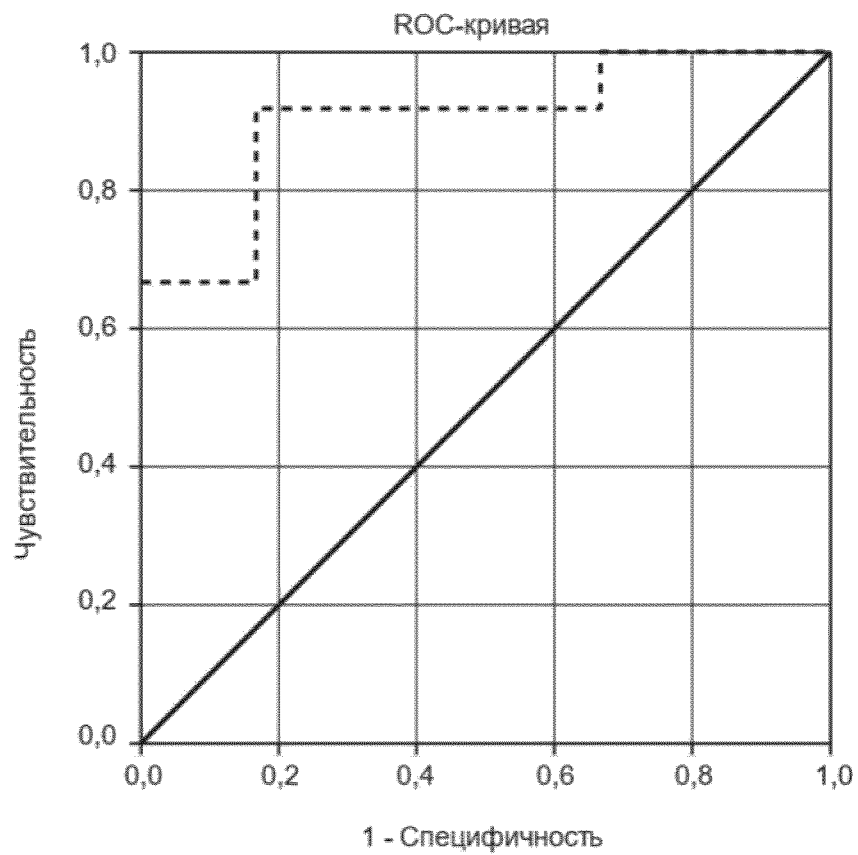
Фиг. 5



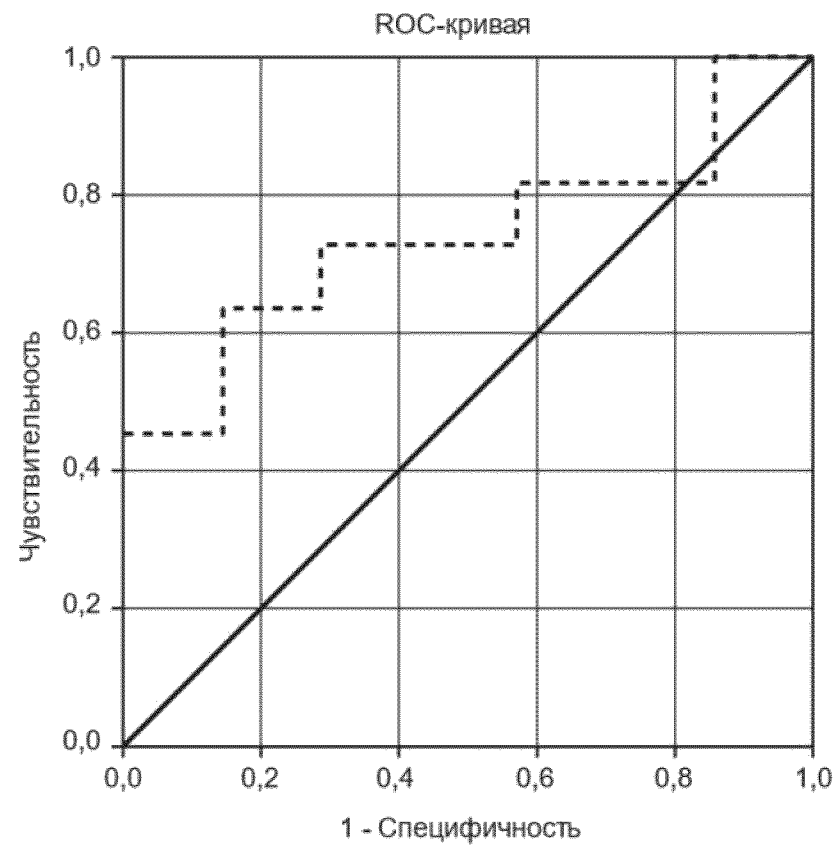
Фиг. 6



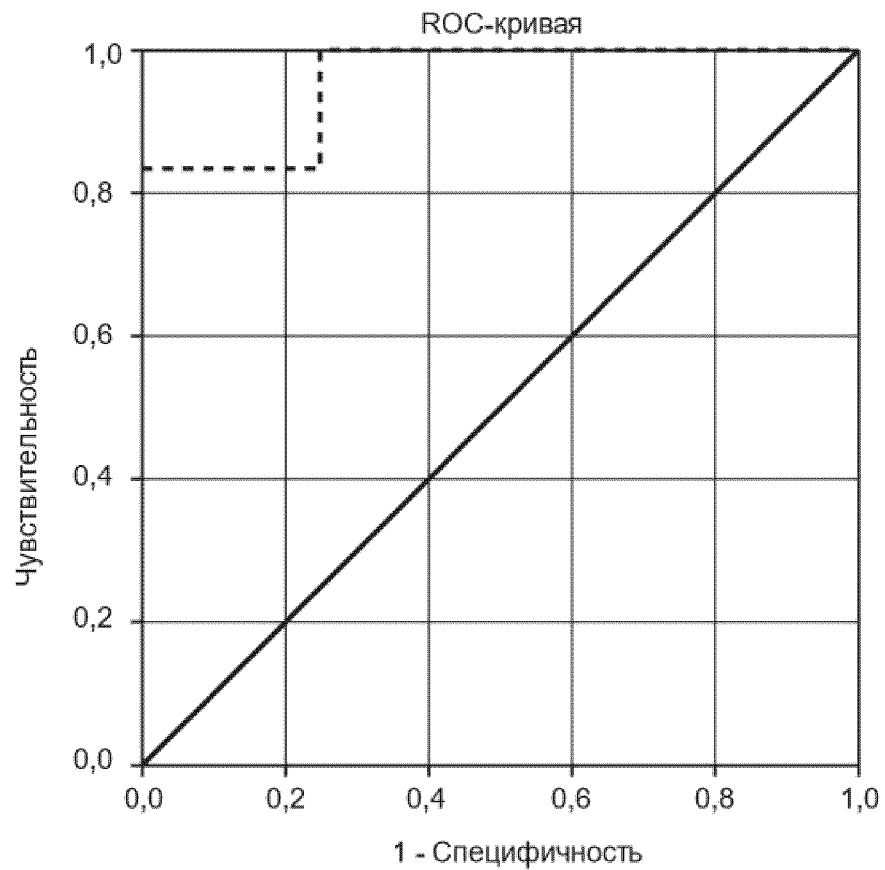
Фиг. 7А



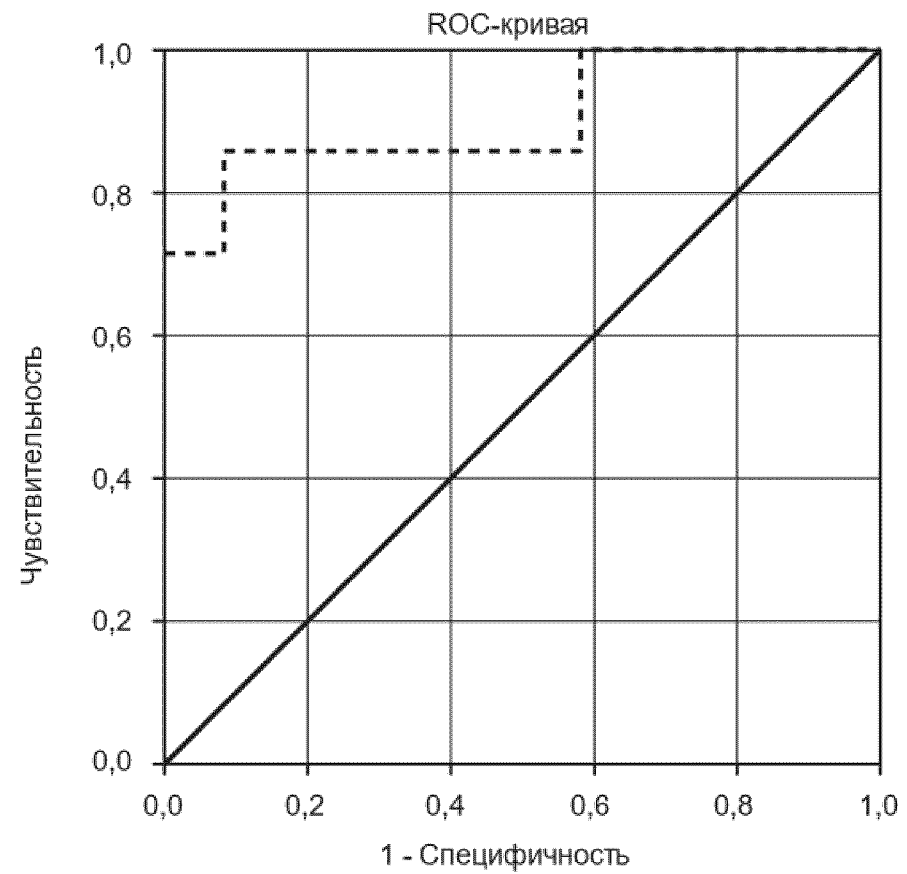
Фиг. 7В



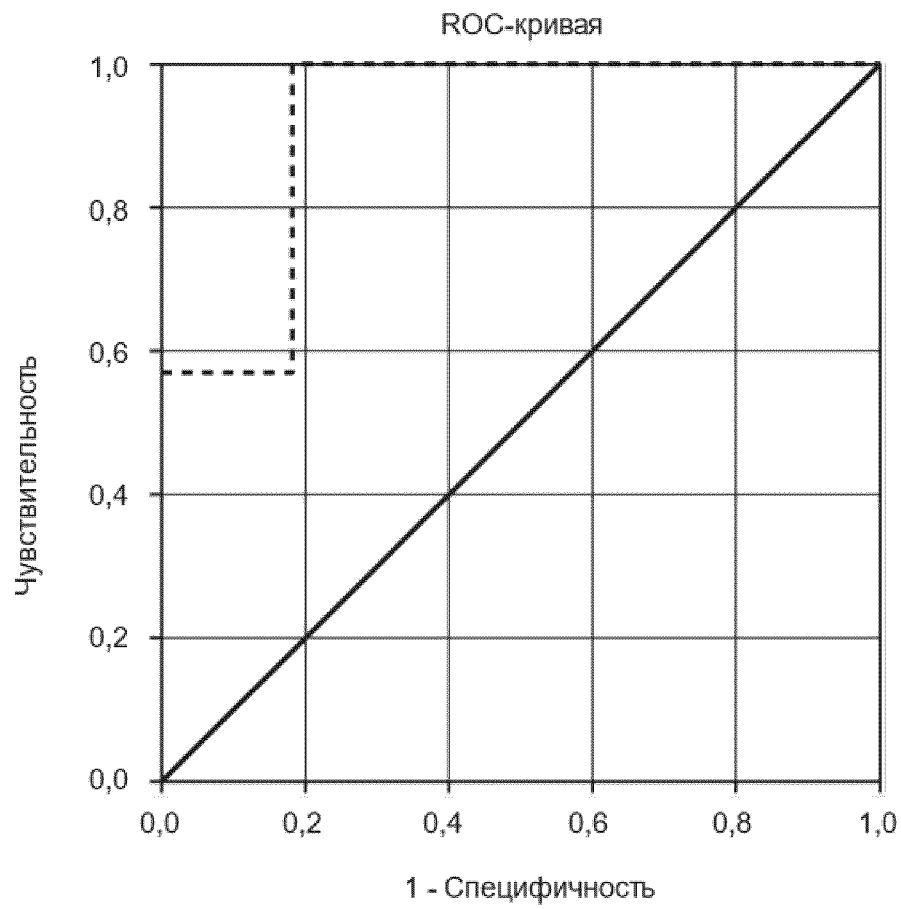
Фиг. 7С



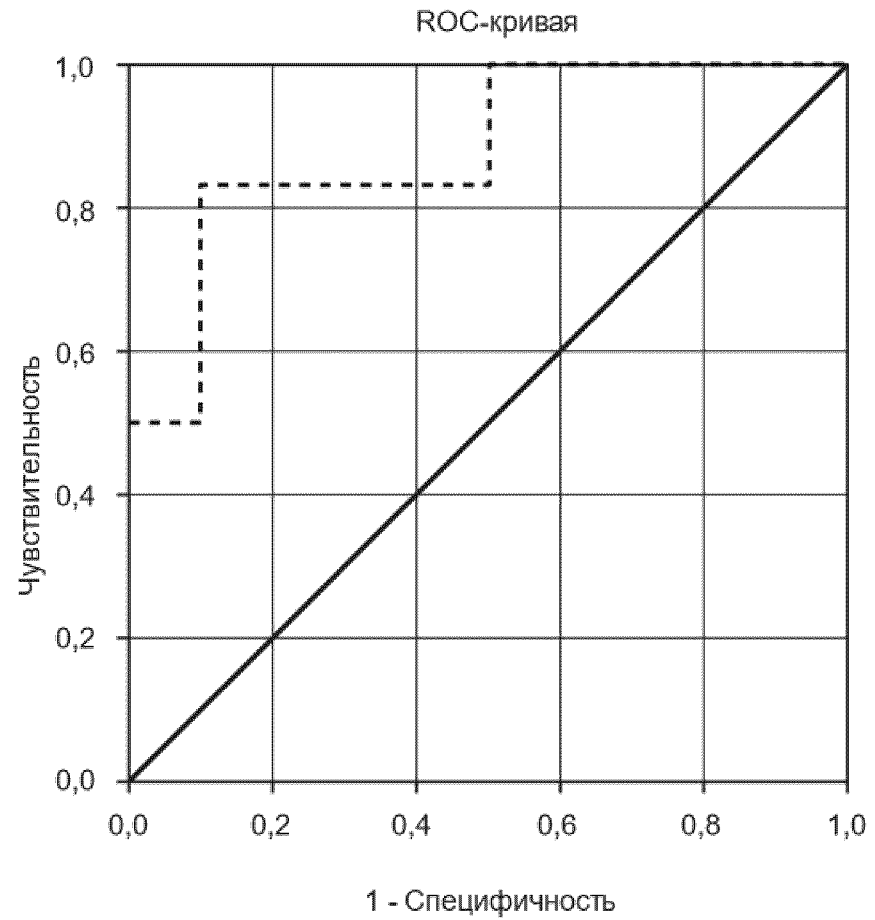
Фиг. 8А



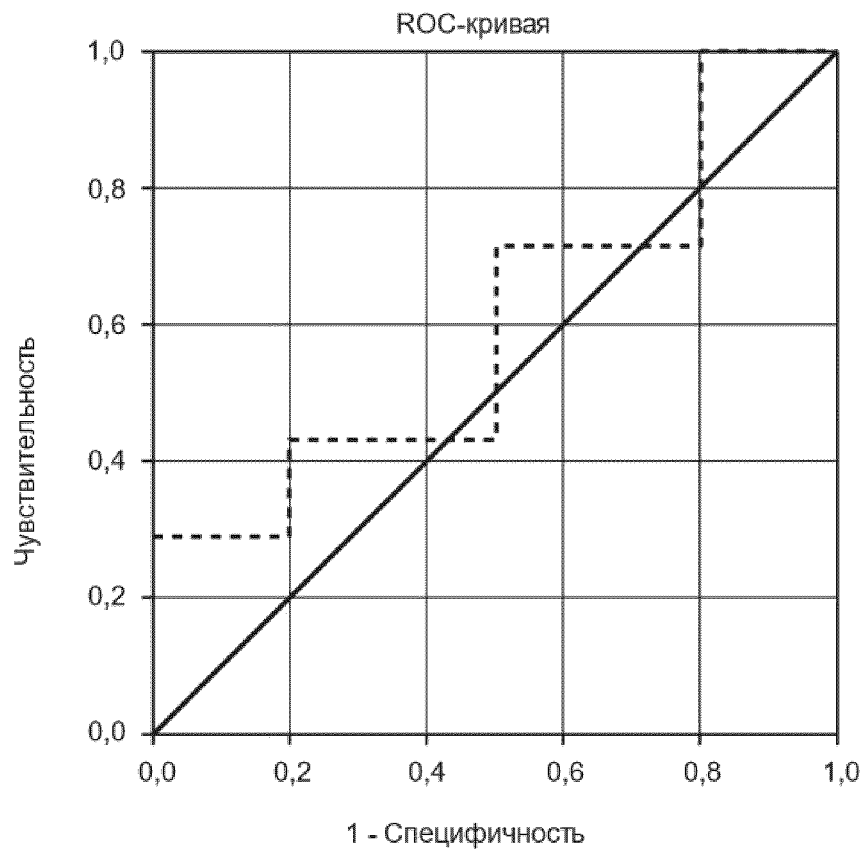
Фиг. 8В



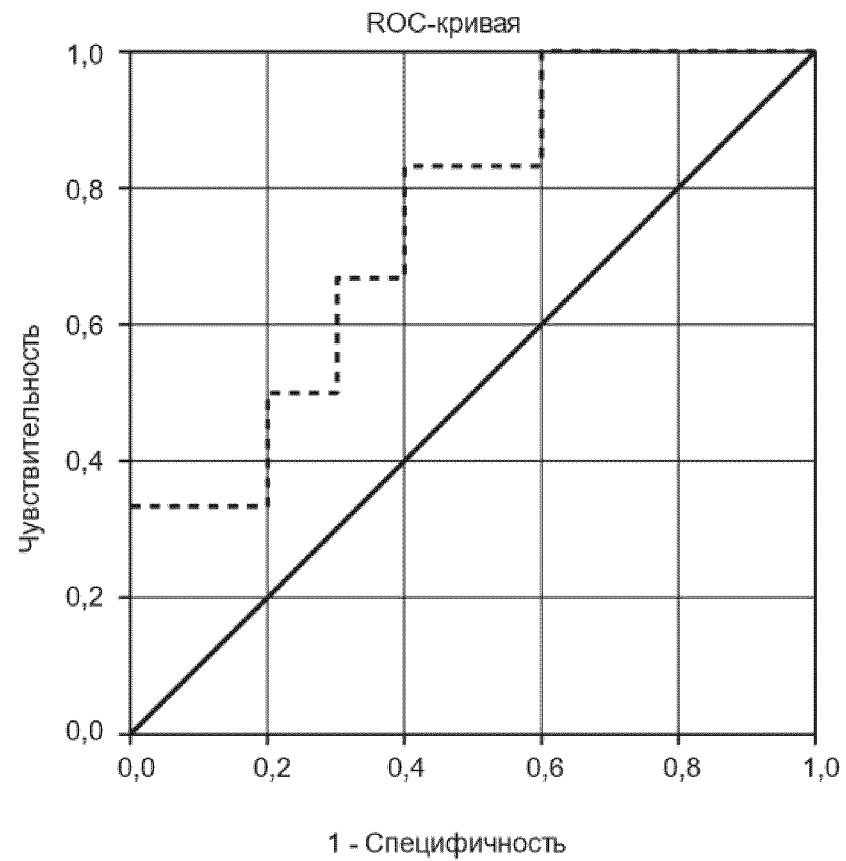
Фиг. 8C



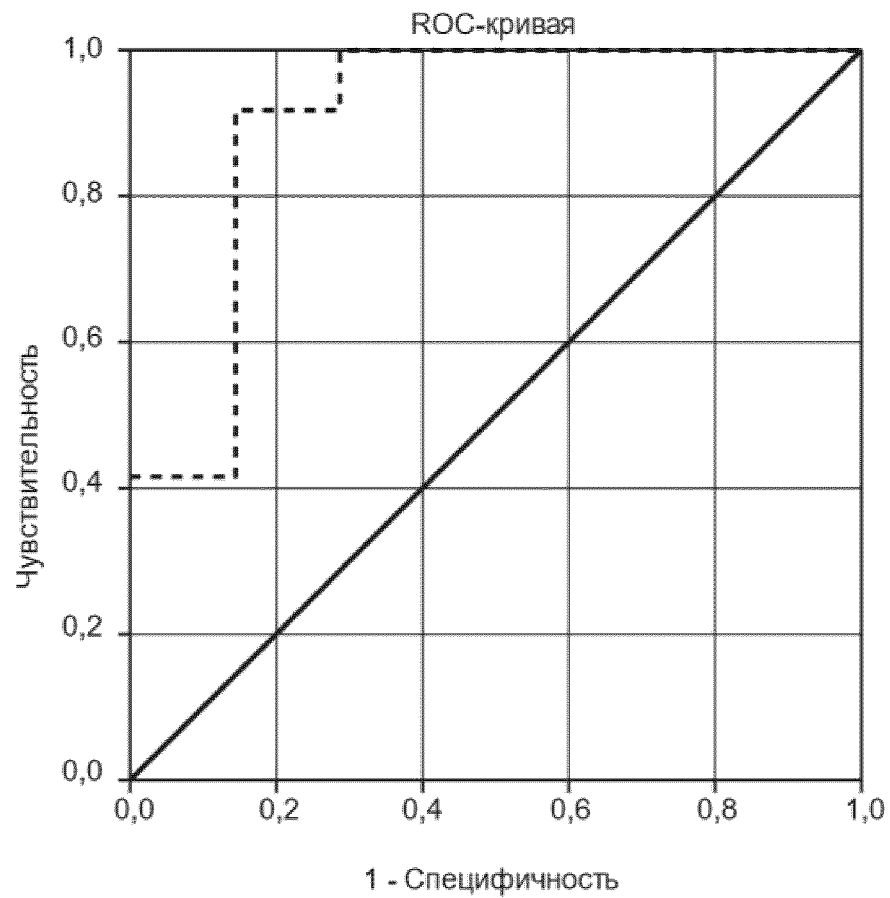
Фиг. 8D



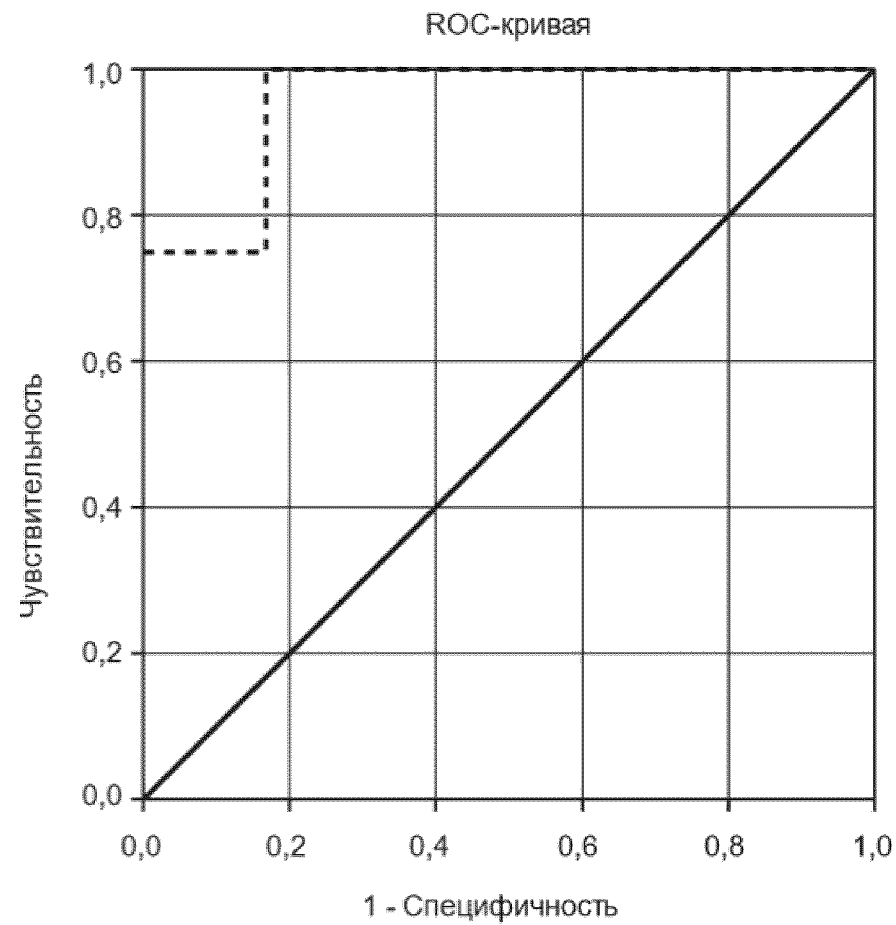
Фиг. 8E



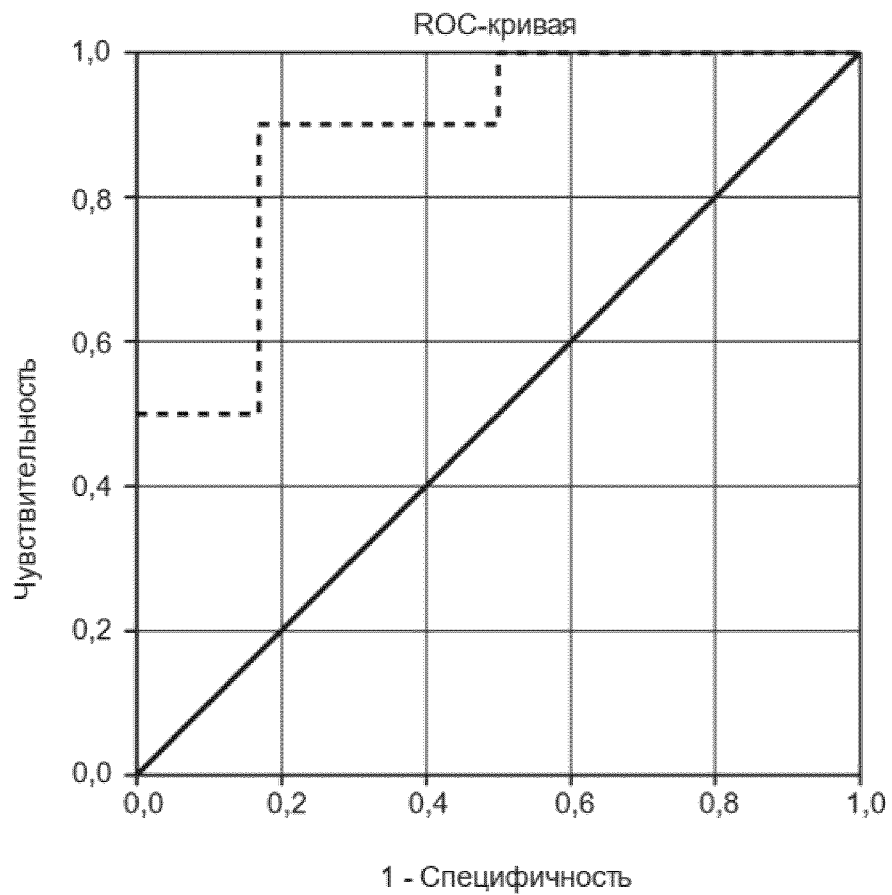
Фиг. 8F



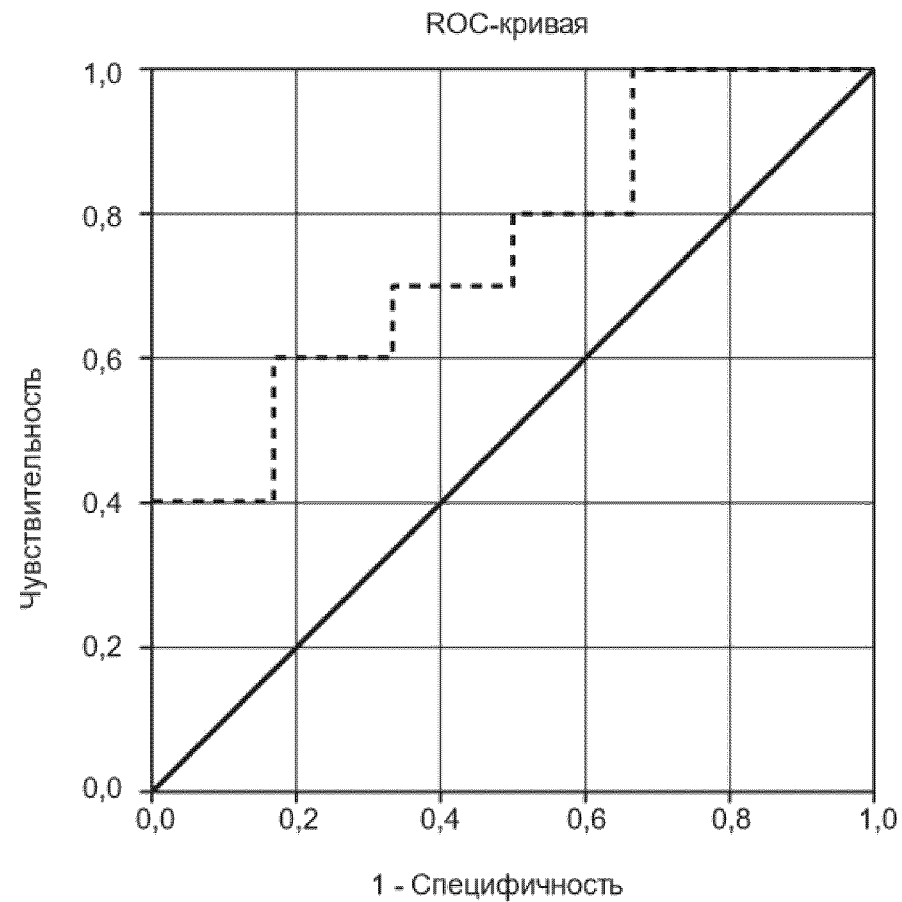
Фиг. 9А



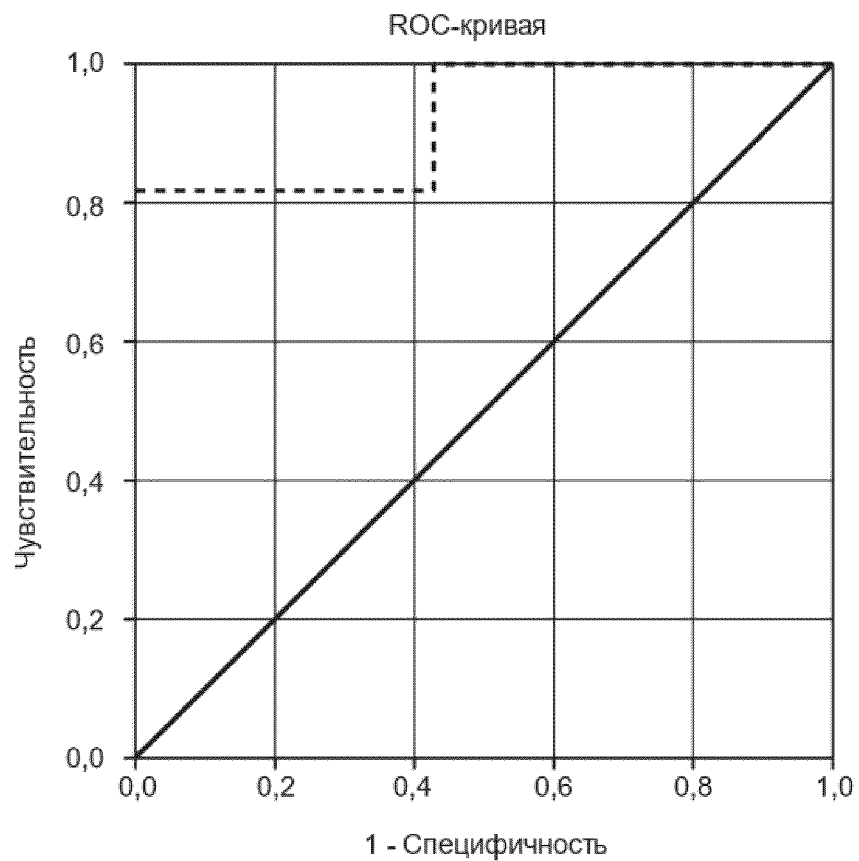
Фиг. 9В



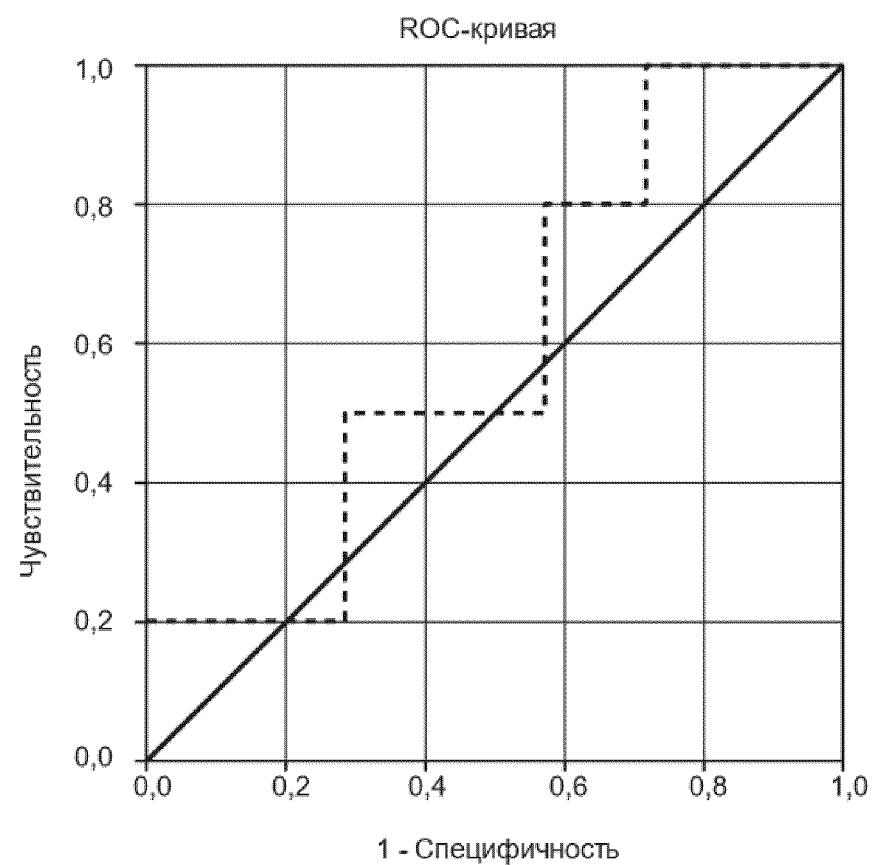
Фиг. 9C



Фиг. 9D



Фиг. 9E



Фиг. 9F