



EESTI VABARIIK

PATENDIAMET

(11) **EE-EP 1 485127 B1**

(51) Int. Cl.
C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
G01N 33/533 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)
A61P 1/04 (2006.01)
A61P 37/02 (2006.01)
A61P 25/02 (2006.01)

(12) **EESTIS KEHTIVA EUROOPA PATENDI
 PATENDIKIRJELDUSE TÕLGE**

| | | | |
|--|---------------------------|------------------------|---|
| (10) Registreeringu number: | E005733 | (73) Patendiomanik: | ELAN PHARMACEUTICALS, INC. 800 Gateway Boulevard, South San Francisco, CA 94080, US |
| (11) Patendikirjelduse tõlke number: | EE-EP 1 485 127 | (72) Leiutise autorid: | TAYLOR, Julie 1506 7th Avenue, San Francisco, CA 94122, US |
| (30) Prioriteediandmed: | 25.02.2002 US 360134 P | | YEDNOCK, Ted, A. 184 Arroyo Road, Forest Knolls, CA 94933, US |
| | 23.04.2002 US 374501 P | | |
| (96) Euroopa patenditaotluse esitamise kuupäev: | 25.02.2003 | (74) Patendivolinik: | Leevi Markus Patendibüroo Käosaar & Co OÜ Tähe 94, 50107 Tartu, EE |
| (96) Euroopa patendi- taotluse number: | 03709277.2 | | |
| (97) Euroopa patendi väljaand- misest teatamise kuupäev: | 08.06.2011 | | |
| (97) Euroopa patendi number: | EP 1 485 127 | | |
| Patendikirjelduse tõlke esitamise kuupäev: | 02.09.2011 | | |
| Patendikirjelduse tõlke avalikustamise kuupäev: | 17.10.2011 | | |
| (54) Ainete manustamine põletiku raviks | | | |

Ainete manustamine põletiku raviks

TEHNIKAVALDKOND

Käesolevas leiutises avaldatakse ained, mis seonduvad spetsiifiliselt ja inhibeerivad alfa-4 ($\alpha 4$) allüksust sisaldavat integriini retseptorit ning nimetatud
5 ainete terapeutiliste kasutusotstarvetega.

TEHNIKA TASE

Põletik on vaskulariseeritud kudede reageering infektsioonile või vigastusele ja seda mõjutatakse läbi leukotsüütide kleepumise veresoonte endoteliaalrakkudega ja nende infiltreerumise ümbritsevasse kudedesse. Tavapärase põletiku korral
10 vabastavad infiltreeruvad leukotsüüdid sissetungivate organismide, fagotsüütilise prügi ja surnud rakkude tapmiseks toksilisi mediaatoreid ning omavad rolli koe parandamisprotsessides ja immuunvastuses. Kuid patoloogilise põletiku korral on infiltreeruvad leukotsüüdid ülereageerivad ning võivad põhjustada tõsiseid või fataalseid kahjustusi. Vaadake näiteks Hickey, Psychoneuroimmunology II
15 (Academic Press 1990).

Integriinid on rakupinna glükoproteiinide perekond, mis osaleb raku adhesioonis ning immuunrakkude migratsioonis ja aktiveerimisel. Alfa-4 integriini avaldatakse kõikide vereringes leiduvate leukotsüütide (v.a neutrofiilide) poolt ning nimetatud integriin moodustab beeta-1 või beeta-7 integriini allüksustega seotult
20 heterodimeerseid retseptoreid; nii alfa-4 beeta-1 ($\alpha 4\beta 1$) kui ka alfa-4 beeta-7 ($\alpha 4\beta 7$) dimeerid omavad funktsiooni leukotsüütide migratsioonil läbi vaskulaarse endoteeli (Springer et al., 1994 Cell 76: 301-14; ja Butcher et al., 1996 Science 272: 60-6) ning soodustavad parenhüümis raku aktiveerumist ja ellujäämist (Damle et al., 1993 J. Immunol. 151: 2368-79; Koopman et al., 1994 J. Immunol.
25 152: 3760-7; ja Leussink et al., 2002 Acta Neuropathol. 103:131-136).

Täpsemalt, alfa-4 beeta-1 (tuntud ka kui väga hiline antigeen-4 [VLA-4]) seonduv vaskulaarraku adhesioonimolekuliga-1 (VCAM-1) (Lobb et al., 1994 J. Clin. Invest. 94:1722-8), mida omakorda avaldatakse vaskulaarse endoteeli poolt paljudes kroonilise põletiku piirkondades (Bevilacqua et al., 1993 Annu. Rev. Immunol. 11:

767-804; ja Postigo et al., 1993 Res. Immunol. 144:723-35). Alfa-4 beeta-7 dimeer omab interaktsiooni limaskestast adressiini raku adhesioonimolekuliga (MadCAM-1) ja vahendab lümfotsüütide suundumist sisikonda (Farstad et al., 1997 Am. J. Pathol. 150: 187-99; ja Issekutz et al., 1991 J. Immunol. 147: 4178-84). MAdCAM-1 ekspressioon vaskulaarsel endoteelil on samuti suurendatud põletikulise soolehaigusega (PSH) patsientide sisikonna põletikulistes piirkondades (Briskin et al., 1997 Am. J. Pathol. 151: 97-110).

Adhesioonmolekulid nagu alfa-4 integriinid on terapeutiliste ainete potentsiaalseteks sihtmärkideks. Näiteks VLA-4 retseptori, mille allüksuseks alfa-4 integriin on, näol on tegemist olulise sihtmärgiga, mis on tingitud selle interaktsioonist aju endoteliaalrakkudes asuva ligandiga. Ajupõletikust tulenevad haigused ja seisundid omavad eriti raskeid tagajärgi. Ühes muus näites on alfa-4 beeta-7 integriini dimeer oluliseks sihtmärgiks, kuna see osaleb lümfotsüütide suunamisel ja sisikonnas esinevates patoloogilistes põletikes.

Alfa-4 beeta-1 integriini avaldatakse aktiveeritud lümfotsüütide ja monotsüütide ekstratsellulaarsel pinnal; nimetatud lümfo- ja monotsüüdid osalevad sclerosis multiplexiga (SM) seostatud akuutsete põletikuliste ajukahjustuste patogeneesis ja aju-veres barjääri (AVB) lagunemisel (Coles et al., 1999 Ann. Neurol. 46(3): 296-304). Alfa-4 integriini vastaste ainete põletikuvastast potentsiaali on katsetatud nii *in vitro* kui ka *in vivo* loomudelites. Vaadake Yednock et al., 1992, Nature 356: 63-66; USA patenti nr. 5 840 299, mis väljastati 24. novembril 1998 Bendig et al.; ja USA patenti nr. 6 001 809, mis väljastati 14. detsembril 1999 Thorsett et al. *In vitro* katsed demonstreerivad, et alfa-4 integriini antikehad blokeerivad lümfotsüütide kinnitumise aju endoteliaalrakkudele. Katsete, mille abil testiti alfa-4 integriini antikehade toimet loomadele, kellel esines kunstlikult indutseeritud sclerosis multiplexi või eksperimentaalset autoimmuunset entsefalomüeliiti (EAE) simuleeriv seisund, käigus demonstreeriti, et anti-alfa-4 integriini antikehade manustamine takistas aju põletikku ja sellele järgnevat loomade halvatus. Kokku võetuna määratlevad need katsed anti-alfa-4 integriini antikehad kui potentsiaalselt kasulikud terapeutilised ained sclerosis multiplexi ja muude põletikuliste haiguste ja häirete ravimiseks.

Üks muu alfa-4 integriine hõlmava patoloogilise põletiku konkreetne näide on seotud Crohni tõvega (CT), mille näol on tegemist sisikonna kroonilise, ravimatu, korduva, transmuraalse põletikuga. Seda haigust iseloomustab immuunrakkude ebaõige migratsioon ja aktiveerumine sisikonna limaskestas, kus osalevad T-rakud, makrofaagid ja neutrofiilid (Schreiber et al., 1991 Gastroenterology 101: 1020-30). Crohni tõve esmased meditsiinilise sekkumise meetodid hõlmavad 5-aminosalitsülaate (5-ASA), millel on madal efektiivsus, ja kortikosteroide, millel on erinevad lühi- ja pikaajalised kõrvaltoimed (Munkholm et al., 1994 Gut 35: 360-2). Esmastele ravimeetoditele allumatuid patsiente ravitakse immuunvastust mahasuruvate ainete nagu asatiopriini, 6-merkaptopuriini ja metotreksaadiga, kuid nende ainetele on aeglane toime avaldumine ja potentsiaalsed ohtlikud kõrvaltoimed (Stein et al., 2001 Surg. Clin. North Am. 81: 71-101, viii). Hiljuti on avaldatud Crohni tõve ravimiseks bioloogilised ained, millel on kiirem toime avaldumine, kuid selliste ainete kaasnivad samuti probleemid nagu pikaajalise efektiivsuse püsimine ja võimalikud kõrvaltoimed.

LEIUTISE KOKKUVÕTE

Käesolevas leiutises avaldatakse aine, mis on valitud antikeha või selle immunoloogiliselt aktiivse fragmendi hulgast, mis seonduvad alfa-4 integriini või alfa-4 integriini sisaldava dimeeriga, kasutamine krooniliselt manustatava ravimkoostise valmistamiseks sclerosis multiplexi poolt põhjustatud kroonilise patoloogilise põletiku ravimiseks ja nimetatud aineks on natalisumaab, mis manustatakse iga kahe nädala tagant või igakuiselt vähemalt 6 kuu jooksul patsiendile koguses 2 kuni 8 mg/kg kohta.

Ühes teostuses võib kroonilise doseerimisrežiimi efektiivsuse määrata, mõõtes konkreetse integriini dimeeri küllastumise. Ühes konkreetsetes teostuses arvatakse, et alfa-4 beeta-1 integriin osaleb sclerosis multiplexi protsessides ja seega saab efektiivseks krooniliseks manustamisrežiimiks vajaliku küllastumisastme määrata, mõõtes selleks alfa-4 beeta-1 dimeeri retseptori küllastumise.

Ühes teostuses võib kroonilise doseerimisrežiimi edukuse määrata, hinnates patoloogilise põletiku füsioloogilist markerit. Näiteks SM korral manustatava kroonilise doseerimisrežiimi korral saab doseerimisrežiimi kinnitada läbi

ajukahjustuste ulatuse tuvastamise ülesvõtetehnikat nagu magnetresonantstomograafiat (MRI) kasutades.

5 Käesolevas leiutises avaldatakse doseerimisrežiim, kus kasutatakse aine korduvat manustamist, et tekitada patsiendis 65-100% alfa-4 integriini retseptori küllastumine, võimaldades seeläbi patoloogilise põletiku kroonilist mahasurumist patsiendis. Ühes muus konkreetses teostuses manustatakse aine korduvalt vähemalt umbes 75-100% küllastumise tasemete tekitamiseks patsiendis. Aine manustatakse korduvalt vähemalt umbes küllastumise 80-100% tasemete tekitamiseks patsiendis.

10 Käesoleva leiutise omaduseks on, et patoloogilise põletiku soovimatuid toimeid patsiendis saab maha suruda pikaajaliselt, näiteks kuue kuu, ühe aasta, kahe aasta või rohkema vältel.

Käesoleva leiutise meetodi üheks teostuseks on, et anti-alfa-4 integriini aine piisavaid tasemeid säilitatakse pikkade perioodide jooksul patoloogilise põletiku mahasurumiseks nende perioodide jooksul.

Käesoleva leiutise üheks omaduseks on, et doseerimisvorm võimaldab võrreldes ühe doosiga madalamaid patoloogilise põletiku tasemeid pikemate perioodide jooksul.

20 Käesoleva leiutise eeliseks on, et leiutise meetodites kasutatavad ained on hästi talutavad ja madala toksilisusega.

Need ja muud käesoleva leiutise eesmärgid, eelised ja omadused muutuvad valdkonna asjatundjatele paremini mõistetavamateks pärast järgnevalt kirjeldatud meetodite ja koostiste detailide lugemist.

JOONISTE LOETELU

25 Joonisel Fig. 1 on kujutatud joondiagrammi, millel on kujutatud uute Gd-võimendatud kahjustuste üldist keskmist arvu SM patsientidel pärast natalisumaabi doseerimist.

Joonisel Fig. 2 on kujutatud aktiivsete uuringute protsenti natalisumaabi SM uuringu igal ajahetkel. Aktiivseteks uuringuteks on uuringud, mis sisaldavad ühte või rohkemat uut Gd-võimendatud kahjustust.

5 Joonistel Fig. 3A-C ja 4A-C on kujutatud natalisumaabi seerumi kontsentratsioone SM uuringus pärast doseerimisrežiimi ajahetki. Joonistel Fig. 3A-C on kujutatud 3 mg/kg uuringu tasemeid; joonistel Fig. 4A-C on kujutatud 6 mg/kg uuringu tasemeid.

Joonistel Fig. 5A-F on kujutatud SM uuringus säilitatud retseptori küllastumise tasemeid. Näidatud tasemeteks on protsentuaalsed väärtused.

10 LEIUTISE DETAILNE KIRJELDUS

Enne käesoleva leiutise meetodite ja terapeutiliste ainete kirjeldamist tuleb mõista, et käesolev leiutis ei ole piiratud siin kirjeldatud konkreetsete meetodite ja terapeutiliste ainetega, kuna need võivad iseenesest mõistetavalt erineda. Samuti tuleb mõista, et siin kasutatud terminoloogia on mõeldud ainult konkreetsete teostuste kirjeldamiseks, mitte leiutise ulatust piiravana.

20 Kui on lisatud väärtuste vahemik, mõistetakse, et iga vahemikku jääv väärtus (kümnenndikuni alumise piiri väärtusest ulatuv väärtus juhul, kui kontekst ei näita selgesõnaliselt teisiti, nimetatud vahemiku ülemise ja alumise piiri vahemikus olev väärtus ja iga muu mainitud või nimetatud vahemikku jääv väärtus) jääb käesoleva leiutise piiridesse. Nende väiksemate vahemike ülemised ja alumised väärtused võivad jääda iseseisvalt väiksemasse väärtuste vahemikku, mis kehtestatud väärtuste ulatuse piirides võimalikud on. Kui kehtestatud vahemik hõlmab ühte või mõlemat piiri, on käesolevasse leiutisse kaasatud ka vahemikud, mis välistavad kummagi nendest kaasatud piiridest.

25 Tuleb märkida, et siin kasutatuna hõlmavad ainsuse vormid juhul, kui sisu selgesõnaliselt teisiti ei määra, ka mitmuses vorme. Seega näiteks viide „antikehale“ hõlmab samuti mitut sellist antikeha ja viide "doosile" hõlmab viidet ühele või mitmele doosile ja nende valdkonna asjatundjatele teadaolevatele ekvivalentidele jne.

Siin avaldatud publikatsioonid on lisatud eranditult nendes enne käesoleva patenditaotluse esitamiskuupäeva avaldatule viitamiseks. Siin avaldatut ei tohiks käsitleda kui mööndust, et käesolev leiutis ei ole mõeldud ennetama mis tahes sellist avaldatud materjali selle varasema leiutise alusel. Lisaks võivad lisatud
5 publitseerimiskuupäevad erineda tegelikest publitseerimiskuupäevadest, mille korral võib osutada vajalikuks iseseisev kinnitamine.

DEFINITSIOONID

Mõiste „anti-alfa-4 aine“ viitab siin kasutatuna igale ainele, mis seondub spetsiifiliselt alfa-4 allüksust sisaldava integriiniga ja inhibeerib integriini aktiivsust.
10 See hõlmab aineid, mis seonduvad spetsiifiliselt alfa-4 integriiniga, nagu ka aineid, mis seonduvad alfa-4 integriini sisaldava integriini dimeeriga, näiteks alfa-4 beeta-1 ($\alpha_4\beta_1$) või alfa-4 beeta-7 ($\alpha_4\beta_7$). Mõiste „ained“ hõlmab nii sünteetilisi ja rekombinantseid molekule (näiteks antikehasid, väikeseid molekule, peptiide või muid sünteetiliselt valmistatud molekule või ühendeid, nagu ka rekombinantselt
15 valmistatud geenimaterjale) kui ka looduslikult esinevaid ühendeid (näiteks polüpeptiide, antikehasid ja sarnaseid).

Mõiste „efektiivsus“ tähistab siin kroonilise doseerimisrežiimi kontekstis kasutatuna konkreetse ravirežiimi efektiivsust. Efektiivsust saab mõõta haiguse käigu muutuse alusel reageeringuna käesoleva leiutise ainele. Näiteks SM ravimisel saab
20 efektiivsust mõõta ägenemiste ja remissioonidega SM ägenemiste sageduse ja uute KNS kahjustuste tekkimise või puudumisel alusel, tuvastatuna meetodite nagu MRI.

Mõiste „edukus“ tähistab siin kroonilise ravirežiimi kontekstis kasutatuna konkreetse ravirežiimi efektiivsust. See hõlmab efektiivsuse, toksilisuse (näiteks
25 kõrvaltoimete ja patsiendi koostise või doseerimisühiku talutavuse suhtes), patsiendi vastutulelikkuse ja sarnaste tasakaalu. Et krooniline manustamisrežiim oleks „edukas“, peab see tasakaalustama erinevad patsiendi hoolduse ja efektiivsuse aspektid, andes seeläbi patsiendil kõige parema tulemuse.

Mõiste „spetsiifiline seondumine“ viitab siin kasutatuna olukorrale, kus üks
30 spetsiifilise sidumispaari liige ei demonstreeri olulisel tasemel seondumist muude

molekulidega peale selle spetsiifilise sidumispartneri (näiteks afiinsusega, mis sidumispartneri korral on umbes 1000x või rohkem). Käesolevas leiutises ei demonstreeri anti-alfa-4 integriini aine olulist seondumist muude polüpeptiididega peale alfa-4 integriini või alfa-4 integriini sisaldava retseptori. Näiteks antikehade, mida loetakse spetsiifiliselt alfa-4 integriiniga seonduvateks, näideteks on 5 käesoleva leiutise meetodites kasutatavad antikehad, mis seonduvad alfa-4 integriiniga seondumisafiinsusega, mis on 10^7 mooli/l või rohkem ja eelistatult 10^8 mooli/l või rohkem.

Mõiste „põhimõtteliselt homoloogne“ on siin kasutatuna mõeldud tähistama iga polüpeptiidi, mille järjestuses esineb muutusi nii, et funktsionaalselt samaväärne aminohape on asendatud polüpeptiidis ühe või rohkema aminohappega, tekitades seeläbi muutuse, millel puudub või on suhteliselt väike mõju polüpeptiidi sidumisomadustele. Näiteks võib järjestuses ühe või mitu aminohappejääki asendada muu sarnase polaarsusega aminohappega.

Mõisted „immuunvastuse esilekutsumine“ ja „peremehe immuunvastuse esilekutsumine“ viitavad siin kasutatuna immunoloogilise reageeringu tekitamisele alfa-4 integriini sisaldava retseptori vastu patsiendis läbi käesoleva leiutise aine viimise patsienti. Patsiendis esinevat immuunvastust saab iseloomustada läbi seerumi reaktiivsuse alfa-4 integriini retseptori suhtes, mis on vähemalt kaks korda suurem kui vastav reaktiivsus ravimata patsiendis, eelistatumalt kolm korda suurem kui reaktiivsus ravimata patsiendis ja veelgi eelistatumalt vähemalt neli korda suurem kui reaktiivsus ravimata patsiendis; seerumi immunoloogiline reaktiivsus mõõdetakse, kasutades suhtes umbes 1:100 seerumi lahjendust.

Mõiste „ekstsiipiendist materjal“ on mõeldud tähistama iga koostise osa moodustavat ühendit, mis on mõeldud toimima pelgalt kandurina, s.t ei oma iseenesest bioloogilist aktiivsust.

Mõiste „adjuvant“ viitab siin kasutatuna koostise lisandile, mis suurendab käesoleva leiutise aine vastast immuunvastust, kuid ei kutsu iseenesest immuunvastust esile. Adjuvandid võivad immuunvastust suurendada erinevate bioloogiliste mehhanismide abil, mille näideteks on lümfotsüütiline täiendamine, T-raku stimuleerimine, B-raku stimuleerimine ja makrofaagi stimuleerimine.

Mõisted „ravimine“ ja „ravi“ ja sarnased on siin kasutatuna mõeldud tähistama üldiselt soovitud farmakoloogilise ja füsioloogilise toime saavutamist. Mõju võib olla profülaktiline, avaldudes haiguse või selle sümptomi või seisundi ennetamiseks või osalises ennetamiseks, ja/või terapeutiline, avaldudes haiguse, 5 seisundi, sümptomi või haigusele omistatud negatiivse kõrvaltoime osaliseks või täielikuks ravimiseks. Mõiste „ravi“ puudutab siin kasutatuna loomal ja eriti inimesel esineva haiguse igasugust ravi ja hõlmab: (a) haiguse esinemise ennetamist patsiendil, kes võib olla eelnevalt haiguse suhtes vastuvõtlikuks muutunud, kuid kellel ei ole haigust veel diagnoositud; (b) haiguse pidurdamist, s.t 10 haiguse progresseerumise peatamist; või (c) haiguse leevendamist, s.t haiguse ja/või selle sümptomite ja seisundite taandumise põhjustamist. Käesolev leiutis on suunatud patoloogilise põletikuga seonduva haiguse käes kannatava patsiendi ravimisele. Käesolev leiutis puudutab patoloogilisele põletikule omistatud kõrvaltoimete ennetamist, pidurdamist või leevendamist pikkade perioodide 15 jooksul ja nimetatud kõrvaltoimed on põhjustatud ebasobiva põletiku, mis esineb bioloogilises süsteemis pikkade perioodide jooksul, vastu esinevate füsioloogiliste reageeringute poolt.

Mõiste „patoloogiline põletik“ viitab siin kasutatuna ebasobivale ja kroonilisele põletikule, mis seonduv häiretega, mis on valitud rühmast, kuhu kuuluvad astma, 20 ateroskleroos, AIDS-i dementsus, diabeet, põletikuline soolehaigus, reumatoidartriit, transplantaadi hülgamine, transplantaat peremehe vastu haigus, sclerosis multiplex (eriti täiendava demüelinatsiooni inhibeerimiseks), tuumori metastaas, nefriit, atoopiline dermatiit, psoriaas, müokardi isheemia, krooniline prostatiit, sirprakulisest aneemiast tingitud komplikatsioonid, erütematoosluupus ja 25 akuutse leukotsüüdi vahendatud kopsukahjustus. Sellist põletikku iseloomustab põletikuliste rakkude, k.a infiltreeruvate leukotsüütide, suurenenud reageering. Aja jooksul põhjustab selline patoloogiline põletik sageli ebasobiva põletiku piirkonnas leiduvate kudede kahjustusi.

„Antegren®“ tähistab antikeha, mis on tuntud ka kui AN 100226 (antikeha koodi 30 number) või natalisumaab (USAN nimi). Antegren® on rekombinantne ja inimese jaoks kohandatud anti-alfa-4 integriini antikeha. Eelistatult on imetajal ravitavaks

haiguseks või seisundiks haigus või seisund, mis on moduleeritav läbi terapeutiliselt efektiivse koguse Antegren® manustamise.

LEIUTISE ÜLDISED TEOSTUSED

Käesolev leiutis põhineb üllataval leiul, et esilekerkiva uute ühendite klassi, mis on
5 tuntud kui selektiivsed adhesioonimolekuli inhibiitorid (SAMI), kroonilisest manustamisest piisab integriini dimeere hõlmavate häirete korral esineva põletiku krooniliseks mahasurumiseks. Pärast korduva doseerimisrežiimi lõpetamist lõppeb põletiku mahasurumine (vaadake näiteks joonist Fig. 2). Eelnevad põletikuliste inhibiitorite ravimeetodid on lähenenud doseerimisrežiimidele üsna erinevalt, kuid
10 arvamusega, et põletikulise inhibiitori manustamine põhjustaks reaktsiooni keha enda reageeringusüsteemis, mis omakorda viiks põletiku tunnustamiseni patoloogilise ja põhjustaks patoloogilise põletiku kroonilise leevendamise. Leiutise väljatöötajad on käesolevas leiutises demonstreeritud, et krooniline doseerimisrežiim ei ole kõigest lühiajalisest doseerimisrežiimist efektiivsem, vaid
15 on tegelikkuses vajalik patoloogilise põletiku mahasurutuse säilitamiseks. Seega mõningate käesoleva leiutise olulisemate eeliste realiseerimiseks tuleks anti-alfa-4 integriini aine tasemeid säilitada mitme kuu või isegi aastate jooksul.

Käesolev leiutis põhineb anti-alfa-4 integriini antikeha natalisumaabi suuremahulise randomiseeritud platseebo-kontrollitud katse tulemustel
20 patsientidega, kellel esines ägenemistega SM või keskmiselt või raskekujuliselt aktiivne CT. Natalisumaab on rekombinantne inimese jaoks kohandatud monoklonaalne antikeha antagonist, mis on suunatud alfa-4 integriini vastu. Nende kahe katse tulemused on näidanud, et natalisumaabiga ravi parandas SM patsientide sümptomeid.

25 Üldises mõistes ei hõlma käesoleva leiutise meetod ühtegi konkreetset manustamisrežiimi, kuna manustamisrežiim sõltub aktiivaine vormidest ja aktiivaine(te) manustamiseks väljatöötatud koostisest. Kuid siin kirjeldatud konkreetset näited saadi, kasutades natalisumaabi parenteraalset manustamist.

Käesoleva leiutise üldine põhimõte seondub suhteliselt konstantse natalisumaabi
30 koguse sisestamisega patsiendi vereringesse kuude või aastate jooksul. Aine, mis

seondub selektiivselt alfa-4 integriini või alfa-4 integriini sisaldava dimeeriga, krooniline manustamine põhjustab patoloogilise põletiku mahasurumise, mida on võimalik säilitada pikema perioodi jooksul konstantsena. Aktiivaine terapeutiliste tasemete säilitamisega teatud perioodi jooksul on võimalik patoloogilise põletiku krooniline mahasurumine patsiendil.

Väga spetsiifilises teostuses hõlmab leiutis inimpatiendis retseptori dimeeri, mis sisaldab alfa-4 integriini, küllastumisastme saavutamist ja säilitamist, kus nimetatud küllastumisaste jääb vahemikku umbes 65% kuni umbes 100%, eelistatumalt umbes 75% kuni umbes 100% ja veelgi eelistatumalt umbes 80% kuni umbes 100%. Neid retseptori küllastumistasemeid hoitakse nendel tasemetel krooniliselt (s.t 6 kuu või sarnase pikkusega perioodi jooksul), et võimaldada patoloogilise põletiku pidevat mahasurumist.

Antikehad

Käesoleva leiutise aineks on antikeha natalisumaab või selle immunoloogiliselt aktiivsed fragmendid, mis seonduvad selektiivselt alfa-4 integriini või alfa-4 sisaldava dimeeri nagu alfa-4 beeta-1.

Immunoloogiliselt aktiivseteks fragmentideks on Fab fragmendid, F(ab') fragmendid, Fab ekspressioonipanga loodud fragmendid, anti-idiotüüpilised (anti-Id) antikehad (k.a näiteks käesoleva leiutise antikehade anti-Id antikehad) ja iga eelnevalt loetletu epitoopi siduvad fragmendid. Kõige eelistatumalt on antikehadeks käesoleva leiutise inimese antigeeni siduva antikeha fragmendid, k.a Fab, Fab' ja F(ab')₂, Fd, üheaahelalised Fv (scFv), üheaahelalised antikehad, disulfiidiga aheldatud Fv (sdFv) ja V_L või V_H domääni sisaldavad fragmendid, olemata samas nendega piiratud. Antigeeni siduvad antikeha fragmendid, k.a üksikahela antikehad, võivad koosneda ainult varieeruvatest piirkondadest või olla kombineeritud kogu või osaga järgnevast: hinge-piirkond, CH1, CH2 ja CH3 domäänid. Leiutis hõlmab samuti antigeeni siduvaid fragmente, mis võivad sisaldada varieeruvate piirkondade iga kombinatsiooni hinge-piirkonna ning CH1, CH2 ja CH3 domäänidega.

Kimäärsed ja inimese jaoks kohandatud antikehad saab valmistada inimeselt mittepärinevatest antikehadest ning neil võib olla sama või sarnane seondumisafiinsus kui antikehadel, millest need valmistati. Kimäärsete antikehade valmistamistehnikad (Morrison et al., 1984 Proc. Natl. Acad. Sci. 81: 6851; 5 Neuberger et al., 1984 Nature 312: 604; Takeda et al., 1985 Nature 314: 452) hõlmavad näiteks sobiva antigeense spetsiifilisusega hiire antikeha molekuli geenide splaissimist koos sobiva bioloogilise aktiivsusega inimese antikeha molekuli geenidega; sellised antikehad jäävad leiutise piiridesse. Näiteks võib hiire monoklonaalse antikeha varieeruvat (V) piirkonda kodeeriva nukleiinhappe liita 10 inimese konstantset (C) piirkonda nagu IgG1 või IgG4 kodeeriva nukleiinhappena.

Hoolimata sellest, kas aineks on antikeha, tuleb see vastavalt käesolevale leiutisele manustada patsiendile kroonilise doseerimisrežiimiga. Tegelik manustatav kogus ja manustamise kiirus ning ajaline käik sõltuvad ravitava seisundi olemusest ja raskusest. Ravi ettekirjutused nagu doosi suuruse 15 määramine jne jäävad raviarstide ja muude meditsiinitöötajate otsustusvaldkonda ja selle juures arvestatakse tavaliselt ravitavat haigust, konkreetse patsiendi individuaalset seisundit, manustamispiirkonda, manustamismeetodit ja muid praktiseerijatele teadaolevaid faktoreid. Eelnevalt mainitud tehnikate ja protokollide näited on toodud näiteks teoses Remington's Pharmaceutical Sciences, 18. trükk, 20 Osol, A. (ed.), 1990.

RAVIMKOOSTISED

Käesolevas leiutises avaldatakse samuti ravimkoostised kroonilise patoloogilise põletiku vähendamiseks patsiendis, kes on vastuvõtlik ja/või kannatab patoloogilise põletikuga seotud häire käes.

25 Ravimkoostised sisaldavad eelistatult ainet, mille kontsentratsioon on umbes 0,1 kuni umbes 10% koostise massist. Neid võib samuti kasutada sobivas seoses muude farmatseutiliselt aktiivsete ühenditega. Järgnevad meetodid ja ekstsipiendid on pelgalt näitlikud ning ei ole mõeldud ühelgi viisil piiravatena.

Suukaudselt manustatavate preparaatide korral võib aineid kasutada iseseisvalt 30 või koos sobivate lisanditega tablettide, pulbrite, graanulite või kapslite

valmistamiseks koos näiteks tavapäraste lisandite nagu laktoosi, mannitooli, maisitärklise või kartulitärklisega; sideainete nagu kristalse tselluloosi, tselluloosi derivaatide, akaatsia, maisitärklise või želatiinidega; lagundavate ainete nagu maisitärklise, kartulitärklise või naatrium karboksümetüülselluloosiga; 5 määrdeainete nagu talgi või magneesiumstearaadiga; ja soovi korral lahjendite, puhverdavate ainete, niisutavate ainete, säilitusainete ja maitseainetega.

Kui aineks on antikeha, manustatakse koostis eelistatult parenteraalselt manustatava doseerimisvormina. Eelistatud vorm sõltub soovitud manustamisviisist ja terapeutilisest rakendusotstarbest. Koostised võivad samuti 10 sõltuvalt soovitud formulatsioonist sisaldada farmatseutiliselt aktsepteeritavaid mittetoksilisi kandureid või lahjendeid, mis on defineeritud üldiselt kanduritena ja mida kasutatakse tavaliselt loomadele ja inimestele manustamiseks mõeldud ravimkoostiste formuleerimiseks. Lahjendi valitakse sellisena, et see ei mõjutaks kombinatsiooni bioloogilist aktiivsust. Selliste lahjendite näideteks on destilleeritud 15 vesi, füsioloogiline fosfaat-puhverdatud soolalahus, dekstroosi lahus ja Hanki lahus. Lisaks võib ravimkoostis samuti sisaldada muid kandureid, adjuvante või mittetoksilisi, mitteterapeutilisi, mitteimmunogeenseid stabilisaatoreid ja sarnaseid. Samuti võib lisada kandurmolekulid nagu proteoglükaanid. Selliste kandurmolekulide konkreetseteks näideteks on glükoosaminoglükaanid nagu 20 hepariinsulfaat, hüaluroonhape, kerataan-sulfaat, kondroitiin 4-sulfaat, kondroitiin 6-sulfaat, heparaansulfaat ja dermatiinsulfaat, perlekaan ja pentopolüsulfaat, olemata samas nendega piiratud.

Antikehad saab manustada süstitavate lahuse doosidena või aine suspensioonina füsioloogiliselt aktsepteeritavas lahjendis koos farmatseutilise kanduriga, milleks 25 võib olla steriilne vedelik nagu vesi ja õlid koos või ilma pindaktiivse aine lisamiseta. Muudeks farmatseutilisteks preparaatideks on petrooleumi, loomse, taimse või sünteetilise päritoluga preparaadid nagu maapähkliõli, sojaõli ja mineraalõli põhised preparaadid. Üldiselt on eelistatud vedelateks kanduriteks ja eriti süstitavateks lahusteks glükoolid nagu propüleenglükool või 30 polüetüleenglükool. Ained saab manustada pideva vabanemisega vormis nagu depot süstiga, implantaadist preparaadi või osmootse pumbaga, mille võib formuleerida viisil, mis võimaldab aktiivaine pidevat vabanemist.

Lisaks võib antikehad organismi viia, manustades patsiendile tervet või osalist antikeha (näiteks üksikahela Fv) kodeeriva polünukleotidi. Polünukleotiid manustatakse patsiendile sobivas kanduris, et võimaldada antikeha ekspressiooni patsiendis terapeutiliselt efektiivses koguses.

- 5 Ained saab formuleerida süstimiseks mõeldud preparaatidesse läbi nende lahustamise, suspendeerimise või emulgeerimise veepõhises või mitteveepõhises lahustis nagu köögivilja või sarnastes õlides, sünteetilistes alifaatse happe glütseriidides, kõrgemate alifaatsete hapete estrites või propüleenglükoolis. Koostised võivad samuti sisaldada tavapäraseid lisandeid nagu lahusteid, 10 isotoonilisi aineid, suspendeerivaid aineid, emulgeerivaid aineid, stabilisaatoreid ja säilitusaineid.

- Aineid võib kasutada aerosooli koostises, mis manustatakse inhaleerimise või kopsu transpordiga. Käesoleva leiutise ained saab formuleerida survestatud aktsepteeritavatesse propellantidesse nagu diklorodifluorometaani, propaani, 15 lämmastikku ja sarnastesse.

- Enamgi veel, ained võib formuleerida ravimküünaldesse, segades ained selleks erinevate aluste nagu emulgeerivate aluste või vees lahustuvate alustega. Ained saab manustada ravimküünalt kasutades rektaalselt. Ravimküünal võib sisaldada kandureid nagu kookosvõid, polüoksüetüleenglükooli ja polüetüleenglükooli, mis 20 olles tahked toatemperatuuril, sulavad samas kehatemperatuuril.

- Manustamise võib sooritada tavapäraste vahenditega, k.a parenteraalse süstiga, ning manustamine võib olla süsteemne või lokaliseeritud. Ained võib liita erinevatesse terapeutiliseks manustamiseks mõeldud koostistesse. Täpsemalt, ained võib formuleerida ravimkoostistesse, liites need sobivate farmatseutiliselt 25 aktsepteeritavate kandurite või lahjenditega ja formuleerides segud seejärel tahkes, pooltahkes, vedelas või gaasilises vormis preparaatidesse nagu tablettidesse, kapslitesse, pulbritesse, graanulitesse, salvidesse, lahustesse, ravimküünaldesse, süstidesse, sifoonidesse, geelidesse, mikrosfääridesse ja aerosoolidesse. Manustamine võib toimuda erinevate meetoditega, k.a 30 suukaudne, bukaalne, rektaalne, parenteraalne, intraperitoneaalne, intradermaalne, transdermaalne, intratrahheaalne, intranasaalne, sisikonda,

intramuskulaarne, intrakraniaalne, subdermaalne jne manustamine. Aktiivaine võib olla pärast manustamist süsteemne või lokaliseeritud läbi piirkondliku manustamise, intramuraalse manustamise või implantaadi kasutamise, mille eesmärgiks on aktiivaine doosi säilitamine siirdamise piirkonnas.

- 5 Suukaudseks või rektaalseks manustamiseks võib luua ühikulised doseerimisvormid nagu siirupid, eliksiirid ja suspensioonid, kus iga doseerimisühik nagu teelusikatäis, supilusikatäis, tablett või ravimküünal sisaldab eelnevalt määratud koostise kogust, mis omakorda sisaldab ühte või rohkemat käesoleva leiutise ainet. Samuti võivad süstimiseks või intravenoosseks manustamiseks
- 10 mõeldud ühikulised doseerimisvormid sisaldada käesoleva leiutise ainet koostises, milleks on lahus steriilses vees, tavapärasel soolalahuses või muus farmatseutiliselt aktsepteeritavas kanduris.

- Pideva vabanemisega koostiste implantaadid on praktikas teada. Implantaadid formuleeritakse mikrosfääride, slääbide jne vormis biolagunevaid või mitte-
- 15 biolagunevaid polümeere kasutades. Näiteks piimhappe ja/või glükoolhappe polümeerid moodustavad laguneva polümeeri, mis on peremehes hästi talutav. Implantaat paigutatakse valgu deposiidi piirkonna vahetusse lähedusse (näiteks neurodegeneratiivsete häiretega seotud amüloidi deposiitide moodustumispiirkonna lähedusse) nii, et aktiivaine lokaalne kontsentratsioon
- 20 selles piirkonnas suureneb võrreldes ülejäänud kehaga.

- Tüüpiliseks patsiendile mõeldud doseerimisühikuks on intravenoosseks manustamiseks sobiv lahus; kaks kuni kuus korda päevas manustatav tablett; või üks aja jooksul aktiivaine vabastav kapsel või tablett, mis võetakse korra päevas ja omab suhteliselt kõrgemat aktiivaine sisaldust, olemata samas nendega piiratud.
- 25 Aja jooksul vabanemise võib saavutada, kasutades kapsli materjale, mis lahustuvad erinevate pH väärtuste juures; kasutades kapsleid, mis lagunevad aeglaselt osmootse rõhu toimel; või muude kontrollitud vabanemise vahenditega.

- Antikehad ja peptiidid manustatakse mõnikord koos adjuvandiga. Anti-alfa-4 integriini ainega kombineeritult võib immuunvastuse esilekutsumiseks kasutada
- 30 mitmeid erinevaid adjuvante. Eelistatud adjuvandid suurendavad sisemist reageeringut ainele ilma, et ainele tekitataks põhimõttelisi muutusi, mis mõjutaksid

reageeringu kvalitatiivset vormi. Eelistatud adjuvantide näideteks on alumiiniumhüdroksiid ja alumiiniumfosfaat 3-de-O-atsüülitud monofosforüül lipiid A (MPL™) (vaadake patenti GB2220211 (RIBI ImmunoChem Research Inc., Hamilton, Montana, nüüd asutuse Corixa osa). Stimulon™ QS-21 on

5 triterpeenglükosiid või saponiin, mis on eraldatud Lõuna-Ameerika puu *Quillaja Saponaria Molina* koorest (vaadake Kensil et al., in Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach (toimetajad Powell & Newman, Plenum Press, NY, 1995); USA patenti nr. 5 057 540, (Aquila BioPharmaceuticals, Framingham, MA). Muudeks adjuvantideks on õli-vees emulsioonid (näiteks skvaleen või

10 maapähkliõli), mis on valikuliselt koos immuunsuse stimulantide nagu monofosforüüllipiidiga A (vaadake Stoute et al., 1997 N. Engl. J. Med. 336: 86-91). Veel üheks adjuvandiks on CpG (patent WO 98/40100). Alternatiivina võib adjuvandiga liita mõne leiutise aine. Kuid selline liitmine ei tohiks muuta põhimõtteliselt soovitud alfa-4 epitoobi konformatsiooni, mis võimaldaks mõjutada

15 peremehe immuunvastuse olemust. Adjuvandid saab manustada terapeutilise koostise komponendina koos aktiivainena või manustada eraldi enne, samaaegselt või pärast terapeutilise aine manustamist.

Manustamisel kasutatavaks eelistatud adjuvantide klassiks on alumiiniumsoolad (alum) nagu alumiiniumhüdroksiid, alumiiniumfosfaat ja alumiiniumsulfaat.

20 Selliseid adjuvante saab kasutada koos või ilma spetsiaalsete immuunvastust stimuleerivate ainete nagu MPL või 3-DMP, QS-21, polümeersete või monomeersete aminohapete nagu polüglutaamhappe või polülüsiiniga. Veel üheks adjuvantide klassiks on õli-vees emulsiooni koostised. Selliseid adjuvante saab kasutada koos või ilma muude spetsiaalsete immuunsust stimuleerivate aineteta,

25 mille näideteks on muramüülpeptiidid (näiteks N-atsetüülmuramüül-L-treonüül-D-isoglutamiin (thr-MDP), N-atsetüül-normuramüül-L-alanüül-D-isoglutamiin (nor-MDP), N-atsetüülmuramüül-L-alanüül-D-isoglutaminüül-L-alaniin-2-(1'-2'dipalmitoüül-sn-glütsero-3-hüdroksüfosforüüloksü)-etüülamiin (MTP-PE), N-atsetüülgluksaminüül-N-atsetüülmuramüül-L-Al-D-isoglu-L-Ala-dipalmitoksü

30 propüülamiid (DTP-DPP), theramide™ või muud bakteriaalse rakuseina komponendid. Õli-vees emulsioonide näideteks on (a) MF59 (WO 90/14837), mis sisaldab 5% skvaleeni, 0,5% Tween 80 ja 0,5% Span 85 (sisaldab valikuliselt erinevaid MTP-PE koguseid) ja on formuleeritud submikronilisteks osakesteks,

kasutades selleks mikrokeevkihistit nagu Model 110Y mikrokeevkihistit (Microfluidics, Newton MA); (b) SAF, mis sisaldab 10% skvaleeni, 0,4% Tween 80, 5% plurooniliselt blokeeritud polümeeri L121 ja thr-MDP, mis on keevkihistatud submikronilisse emulsiooni või töödeldud keerisvoolus suurema osakese suurusega emulsiooni loomiseks; ja (c) RibitTM adjuvandi süsteem (RAS), (Ribi Immunochem, Hamilton, MT), mis sisaldab 2% skvaleeni, 0,2% Tween 80 ja ühte või rohkemat bakteriaalse rakuseina komponenti, mis on valitud rühmast, kuhu kuuluvad monofosforüüllipiid A, trehaloos dimükolaat (TDM) ja rakuseina toes (CWS); ja eelistatult MPL + CWS (DetoxTM). Veel üheks eelistatud adjuvantide klassiks on saponiini adjuvandid nagu StimulonTM (QS-21; Aquila, Framingham, MA) või sellest valmistatud osakesed nagu ISCOM (immuunsust stimuleerivad kompleksid) ja ISCOMATRIX. Muudeks adjuvantideks on täielik ja mittetäielik Freundi adjuvant (IFA), tsütokiinid nagu interleukiinid (IL-1, IL-2 ja IL-12), makrofaagi kolooniat stimuleeriv faktor (M-CSF) ja tuumori nekroosifaktor (TNF). Sellised adjuvandid on üldjuhul kaubanduslikest allikatest saadaval.

Adjuvandi saab manustada koos leiutise ainega ühes koostises või enne, samaaegselt või pärast leiutise aine manustamist. Aine ja adjuvandi saab pakendada ja tarnida samas pudelis või võivad need olla pakendatud eraldi pudelitesse ja segatakse enne kasutamist. Leiutise aine ja adjuvant pakendatakse tüübiliselt koos infolehega, kus on näidatud eesmärgipärane terapeutiline kasutus. Kui leiutise aine ja adjuvant on pakendatud eraldi, hõlmab pakend tavaliselt juhiseid kasutamiseelseks segamiseks. Adjuvandi ja/või kanduri valik sõltub faktoritest nagu adjuvanti sisaldava koostise stabiilsusest, manustamisviisist, doseerimisgraafikust ja adjuvandi efektiivsusest vaktsineeritavates liikides. Inimestes on eelistatud farmatseutiliselt aktsepteeritavaks adjuvandiks adjuvant, mis on kiidetud heaks inimestele manustamiseks asjakohaste reguleerivate asutuste poolt. Selliste eelistatud inimkasutuseks mõeldud adjuvantide näideteks on alumiinium, MPL ja QS-21. Valikuliselt saab kahte või rohkemat adjuvanti kasutada samaaegselt. Eelistatud kombinatsioonide näideteks on alumiinium ja MPL, alumiinium ja QS-21, MPL ja QS-21 ja alumiinium, QS-21 ning MPL koos. Kasutada võib ka ebatäielikku Freundi adjuvanti (Chang et al., 1998 Advanced Drug Delivery Reviews 32: 173-186) ja valikuliselt koos iga alumiiniumi, QS-21 ja MPL kombinatsiooni või kõikide nende kombinatsiooniga.

KROONILISE MANUSTAMISE DOSEERIMISREŽIIMID

Käesoleva leiutise krooniliste ravirežiimide korral manustatakse anti-alfa-4 integriini aine tasemel, mis võimaldab säilitada piisava retseptori küllastumise patoloogilise põletiku mahasurumiseks seda vajaval patsiendil. Leiutise meetoditega kaasneb korra kahe nädala jooksul või korra kuus kuni korra kahe kuu jooksul manustamine ja doseerimine toimub vähemalt kuue kuu jooksul ja eelistatult aasta või pikema perioodi jooksul. Leiutise meetodid hõlmavad inimpatsiendis alfa-4 integriini sisaldava dimeeri (näiteks VLA-4) retseptori küllastumistaseme säilitamist, mis jääb vahemikku umbes 65% kuni 100%, eelistatumalt vahemikku umbes 75% kuni umbes 100% ja veelgi eelistatumalt vahemikku umbes 80% kuni umbes 100%. Neid retseptori küllastumistasemeid hoitakse nendel tasemetel krooniliselt (s.t 6 kuu või sarnase pikkusega perioodi jooksul), et võimaldada patoloogilise põletiku pidevat mahasurumist.

Leiutises on anti-alfa-4 aineks inimese jaoks kohandatud antikehaks natalisumaab ja doseerimine toimub igakuiselt. Retseptori küllastumise tasemeid saab jälgida, määrates seeläbi doseerimisrežiimi efektiivsuse, ja füsioloogilisi markereid mõõta, et kinnitada seeläbi doseerimisrežiimi edukus. Kinnitusena saab jälgida antikeha tasemeid seerumis, määrates seeläbi antikeha kõrvaldamisaja ja poolestusaja potentsiaalse toime ravi efektiivsusele.

Antikeha manustamisel on iga doosi süsti suuruseks üldiselt 2,0 kuni 8,0 mg/kg. Vastavalt siin avaldatud andmetele saab efektiivseid doose jälgida, võttes patsiendilt vedelikuproovi, milleks on üldiselt vere seerumi või tserebrospinaalvedeliku proov, ja määrates integriini retseptori küllastumise, kasutades selleks praktikas teadaolevaid meetodeid. Ideaalis võetakse proov enne esimest doosi; järgnevad proovid võetakse ja mõõdetakse enne ja/või pärast iga immunisatsiooni. Eriti eelistatud koguseks on 3 mg/kg patsiendi kehamassi kohta kuus natalisumaabi või selle immunoloogiliselt aktiivset fragmenti.

Kui manustatakse adjuvant, suurendatakse doseerimistaset vastavalt konkreetsele adjuvandile ja anti-alfa-4 aine immunogeensuse astmele. Individuaalsete ainete doosid, mis on valitud vastavalt käesolevale leiutisele, määratakse vastavalt siin avaldatutega ühtivatele standardsetele doseerimismeetoditele.

Alternatiivina korduvatest individuaalsetest doseerimistest koosnevale kroonilisele manustamisele saab anti-alfa-4 aine manustada pideva vabanemisega koostisena eeldusel, et doosi suurusest piisab retseptori küllastumise tasemete hoidmiseks põletiku mahasurumiseks piisavalt kõrgel. Näiteks võib kontrollitud vabanemisega süsteeme kasutada anti-alfa-4 aine krooniliseks manustamiseks käesoleva leiutise alusel. Arutelu sobivate kontrollitud vabanemisega doseerimisvormide kohta on toodud näiteks teoses Lesczek Krowczynski, Extended-Release Dosage Forms, 1987 (CRC Press, Inc.).

Erinevad kontrollitud vabanemisega tehnoloogiad katavad väga laia ravimi doseerimisvormide ulatuse. Kontrollitud vabanemisega tehnoloogiate näideteks on füüsikalised süsteemid ja keemilised süsteemid, olemata samas nendega piiratud. Füüsikaliste süsteemide näideteks on reservuaarsüsteemid koos kiirust kontrollivate membraanidega nagu mikrokapseldamine, makrokapseldamine ja membraanisüsteemid; reservuaarsüsteemid ilma kiirust kontrollivate membraanideta nagu õõnsad kiud, ultra-mikroporne tselluloosriatsetaat ja poorsed polümeersed substraadid ja vahud; monoliitsed süsteemid nagu süsteemid, mis on füüsikaliselt mittepoorsetes, polümeersetes või elastomeersetes matriitsides lahustatud (näiteks mittelagunevad, lagunevad ja keskkonnaaine ingressioon); lamineeritud struktuurid nagu reservuaarkihid, mis sarnanevad või ei sarnane keemiliselt väliste kontrollkihtidega; ja muud füüsikalised meetodid nagu osmoosid pumbad või adsorptsioon ionvahetuse vaikudele, olemata samas nendega piiratud.

Keemilised süsteemid hõlmavad polümeeri matriitside keemilist erosiooni (näiteks heterogeenset või homogeenset erosiooni) või polümeeri matriitsi bioloogilist erosiooni (näiteks heterogeenset või homogeenset). Kontrollitud vabanemise süsteemide kategooriaid puudutava täiendava arutelu võib leida teoses Agis F. Kydonieus, Controlled Release Technologies: Methods, Theory and Applications, 1980 (CRC Press, Inc.).

Leiutise antikeha saab kasutada patsiendi ravimiseks, keda mõjutab häire, mis hõlmab või tuleneb patoloogilisest põletikust, või konkreetse häire tekkimisohuga patsiendi profülaktiliseks ravimiseks. Doseerimisrežiimid, mis on vajalikud

profülaktiliseks või terapeutiliseks raviks, võivad erineda ning tuleb kohandada vastavalt konkreetsele kasutamisele ja ravitavale häirele.

Mõningates meetodites manustatakse kaks või rohkem ainet (näiteks erinevate sidumisspetsiifilisustega monoklonaalset antikeha) samaaegselt ja sellisel juhul jääb iga aine doosi suurus näidatud suuruste vahemikku. Intervallid võivad olla samuti irregulaarsed, mida näitab retseptori küllastumise tasemete või järgnevate muude haigusprotsessi indikaatorite mõõtmine.

Valdkonna asjatundjad mõistavad, et doosi suurused võivad erineda kui konkreetse aine funktsioon, sümptomite raskusaste ja patsiendi vastuvõtlikkus kõrvaltoimetele. Mõned konkreetsetest ainetest on potentsiaalsemad kui ülejäänud. Iga aine eelistatud doosi suurused on valdkonna asjatundjate poolt erinevate vahendite abil kergesti määratavad. Eelistatud on konkreetse aine füsioloogilise potentsiaali mõõtmine.

TERAPEUTILISED NÄIDUSTUSED

15 Kontrollitud vabanemisega koostisi saab kasutada suure hulga soovitud toimete saavutamiseks. Koostised on eriti kasulikud üldiselt iga haigusetapi või sümptomi ravimiseks, mis on ravitav patoloogilisele põletikule suunatud põletikuvastaste ainete pikaajalise manustamisega.

Leiutise antikeha kasutatakse sclerosis multiplexi ravimiseks. Sclerosis multiplex (SM) on progresseeruv neuroloogiline autoimmuunne haigus, mis põeb USA-s hinnanguliselt 250 000 kuni 350 000 inimest. Arvatakse, et SM on põhjustatud spetsiifilisest autoimmuunsest reaktsioonist, kus teatud leukotsüüdid ründavad ja käivitavad müeliini, mis on närvikiude kattev eralduskiht, hävitamise. SM loomudelis on demonstreeritud, et alfa-4 beeta-1 integriini vastu suunatud hiire monoklonaalsed antikehad blokeerivad leukotsüütide adhesiooni endoteeli külge, takistades seeläbi kesknärvisüsteemi põletikku ja sellele järgnevat loomade halvatust.

SM avaldumine võib olla väga raskekujuline või nii leebe, et patsient ei pea meditsiinilist abi otsima. Kõige tavalisemateks sümptomiteks on nõrkus (ühes või mitmes jäsemes), hägune nägemine (optilise neuriidi tõttu), sensoorsed häired,

diploopia ja ataksia. Haiguse käigu võib jagada kolme üldkategoriasse: (1) ägenev SM; (2) krooniline progresseeruv SM; ja (3) inaktiivne SM. Ägenevat SM iseloomustavad neuroloogiliste düsfunktsioonide korduvad esinemised. SM haigushood tekivad üldiselt päevade kuni nädalate jooksul ja neile võib järgneda
5 täielik, osaline või puuduv taastumine. Haigushoogudest taastumine toimub üldiselt nädalate kuni mitme kuu jooksul pärast sümptomite haripunkti, kuid harvadel juhtudel võib mõningane taastumine jätkuda 2 või rohkem aastat.

Krooniline progresseeruv SM põhjustab järkjärgult progresseeruva halvenemise ilma stabiliseerumise või remissioonita. See haigusvorm tekib patsientidel, kellel
10 on varasem ägenemistega SM ajalugu, kuigi 20% patsientidest ägenemisi ei täheldata. Progresseeruva haiguskäigu jooksul võib esineda akuutseid ägenemisi.

Kolmandaks vormiks on inaktiivne SM. Inaktiivsed SM iseloomustavad erineva tugevusega fikseeritud neuroloogilised puudused. Enamus inaktiivse SM patsientidest omavad varasemat ägenemistega SM ajalugu.

15 SM haiguskäik sõltub samuti patsiendi vanusest. Näiteks on soodsateks prognostilisteks faktoriteks varajane avaldumine (v.a lapsepõlves), ägenemistega haiguskäik ja vähene püsiv puue 5 aastat pärast haiguse avaldumist. Samas halba prognoosi seostatakse vastupidi hilise haiguse avaldumisega (s.t vanuses 40 või rohkem eluaastat) ja progresseeruva haiguskäiguga. Need muutujad on
20 vastastikku seotud, kuna krooniline progresseeruv SM kaldub algavat hilisemas vanuses kui ägenemistega SM. Kroonilisest progresseeruvast SM tingitud puue on põhjustatud tavaliselt individuaalsete patsientide progresseeruvast parapleegiast või kvadripleegiast. Ühes käesoleva leiutise teostuses ravitakse patsiente eelistatult perioodidel, kus patsiendil esineb remissioon, mitte haiguse
25 ägenemistega etapp.

Patsientide, kellel esineb SM akuutne ägenemine, ainsaks spetsiifiliseks ravimeetodiks on adrenokortikotroopse hormooni (ACTH) või suukaudselt manustatavate kortikosteroidide (näiteks suukaudselt manustatava prednisooni või intravenoosselt manustatava metüülprednisooloni) lühiajaline kasutamine.

SM uuemad ravimeetodid hõlmavad patsiendi ravi interferoon beeta-1b, interferoon beeta-1a ja ravimiga copaxone® (varem tuntud kui kopolümeer 1). On demonstreeritud, et need kolm ravimit vähendavad oluliselt haiguse ägenemistaset. Need ravimid manustatakse tavaliselt intramuskulaarselt või subkutaanselt.

Ükski hetkel kasutatavatest ravimeetoditest ei inhibeeri demüelinatsiooni või SM. Üks leiutise teostus hõlmab SM ravimist ainult siin avaldatud ainete või siin avaldatud ainete ja muude standardravi meetodite kombinatsioonidega. Standardsed ravimeetodid hõlmavad järgnevat, olemata samas nendega piiratud.

10 Valdkonna asjatundja on võimeline leidma ka täiendavaid siin avaldamata ravimeetodeid, mida sõltuvalt patsiendi haiguse raskusastmest siin avaldatud meetodite ja koostistega kombineeritult SM ravimiseks kasutada saab. Selliste täiendavate SM ja muude patoloogiliste põletike ravimeetodite näideteks oleks muud immunomodulaatorid või immuunvastust mahasuruvad ained.

15 Eelnevalt avaldatud ained ja ravimkoostised saab manustada krooniliselt eelnevalt loetletud põletikuliste häirete nagu sclerosis multiplexi, põletikulise soolehaiguse, astma, ateroskleroosi, reumatoidartriidi, organi või transplantaadi hülgamise ja transplantaat peremehe vastu haiguse profülaktiliseks ja/või terapeutiliseks ravimiseks. Terapeutiliste kasutusmeetodite korral manustatakse koostised

20 patsiendile, kellel eeldatakse või kes juba põeb vastavat haigust, koguses, millest piisab haiguse sümptomite ja selle komplikatsioonide ravimiseks või vähemalt osaliseks peatamiseks. Kogus, mille suurusest piisab sellise toime saavutamiseks, on defineeritud kui terapeutiliselt või farmatseutiliselt efektiivne doos.

Profülaktiliste kasutusmeetodite korral manustatakse ravimkoostised krooniliselt

25 patsiendile, kellel kahtlustatakse või kelle on muidu oht konkreetse haigusesse haigestumiseks, koguses, millest piisab riski vähendamiseks või haiguse avaldumise edasilükkamiseks. Selline kogus on defineeritud kui profülaktiliselt efektiivne doos. Patsientidel, kellel esineb sclerosis multiplexi remissioonietapp, võib riski hinnata NMR ülesvõtetega või mõningatel juhtudel ka patsiendi juures

30 vaadeldud presümptomaatiliste näidustustega.

Eelnevalt kirjeldatud seisundite ravimiseks sobivad käesoleva leiutise koostiste efektiivsed doseerimisrežiimid sõltuvad paljudest erinevatest faktoritest nagu manustamisvahenditest, märklaudpiirkonnast, patsiendi füsioloogilisest seisundist ja muudest manustatud ravimitest. Seega tuleb ravis kasutatavaid doose ohutuse ja efektiivsuse optimeerimiseks tiitrida. Üldiselt jääb iga doseerimisrežiimi manustamiskorral manustatav doosi suurus vahemikku umbes 0,0001 kuni 100 mg/kg ja tavalisemalt 0,01 kuni 5 mg/kg peremehe kehamassi kohta. Üheks eelistatud doseerimisrežiimiks on 300 mg, mis manustatakse korra kuus vähemalt 6 kuu jooksul, eelistatumalt 12 kuu jooksul ja võibolla ka mitme aasta jooksul. Veel üheks eelistatud doseerimisrežiimiks on 3 mg/kg patsiendi kehamassi kohta kuus. Selline režiim võib olla eelistatud ravi vajavatele laps- või noorukitest patsientidele.

KOMBINEERITUD TERAAPIAD

Anti-alfa-4 aineid saab kasutada akuutse ja kroonilise põletiku vastu koos muude terapeutiliste ainete efektiivsete kogustega. Selliste ainete näideteks on adhesioonimolekulide muud antagonistid (näiteks muud integriinid, selektiinid ja immunoglobuliini (Ig) ülemperekonna liikmed (vaadake Springer, 1990 Nature 346: 425-433; Osborn, 1990 Cell 62: 3; Hynes, 1992 Cell 9:11)). Integriinid on heterodimeersed transmembraani glükoproteiinid, mis koosnevad α ahelast (120-180 kDa) ja β ahelast (90-110 kDa), millel on üldiselt lühikesed tsütosoolilised domäänid. Näiteks kolmel olulisel integriinil (s.t LFA-1, Mac-1 ja P150,95) on erinevad alfa allüksused, mis on tähistatud kui CAD 11a, CAD 11b ja CD 11c, ning ühine beeta allüksus, mis on tähistatud kui CD18. LFA-1 ($\alpha_L\beta_2$) avaldatakse lümfotsüütidel, granulotsüütidel ja monotsüütidel ning see seondub peamiselt Ig-perekonna liikme vastas-retseptoriga, mis on tähistatud kui ICAM-1, ja seonduvate liganditega. ICAM-1 avaldatakse paljudes rakkudes, k.a leukotsüütides ja endoteliaalrakkudes ning seda ülereguleeritakse vaskulaarsel endoteelil tsütokiinide nagu TNF ja IL-1 poolt. Mac-1 ($\alpha_M\beta_2$) on hajutatud neutrofiilidel ja monotsüütidel ning seondub samuti ICAM-1. Kolmandat β_2 integriini, P150,95 ($\alpha_X\beta_2$), leidub samuti neutrofiilidel ja monotsüütidel. Selektiinide hulka kuuluvad näiteks L-selektiin, E-selektiin ja P-selektiin.

Muudeks põletikuvastasteks aineteks, mida anti-alfa-4 ainetega kombineeritult kasutada saab, on antikehad ja muud tsütokiinide antagonistid nagu interleukiinid

- IL-1 kuni IL-13, tuumori nekroosifaktorid α ja β , interferoonid α , β ja γ , tuumori kasvufaktor beeta (TGF- β), kolooniaid stimuleeriv faktor (KSF) ja granulotsüüdi monotsüüdi kolooniaid stimuleeriv faktor (GM-KSF). Muudeks põletikuvastasteks aineteks on antikehad ja kemokiinide muud antagonistid nagu MCP-1, MIP-1 α ,
5 MIP-1 β , RANTES, eksotaksiin ja IL-8. Muude põletikuvastaste ainete näideteks on NSAIDS, steroidid ja muud põletiku väikese molekuliga inhibiitorid. Kombineeritud teraapias kasutatavate ainete koostised, manustamisviisid ja efektiivsed kontsentratsioonid on analoogsed eelnevalt alfa-4 integriini vastaste inimese jaoks kohandatud antikehade juures kirjeldatutega.
- 10 Täiendavateks aineteks, mida alfa-4 integriini või alfa-4 integriini sisaldavaid dimeere vahendavate ainetega koos ja põletikulise soolehaiguse (PSH), Crohni tõve (CT) ja haavandilise koliidi (HK) ravimiseks kasutada saab, on 5-aminosalitsülaadid, glükokortikoidid, tioguaaniini derivaadid, metotreksaat (MTX), tsüklosporiin, antibiootikumid ja infliksimaab, olemata nendega piiratud.
- 15 5-aminosalitsülaatide näiteks on sulfasalasiin (teada ka kui asulfidiin) ehk mesalamiini konjugaat, mis on aheldatud sulfapüridiiniga diaso-sideme kaudu ja manustatakse tavaliselt koguses 500 mg/päevas kuni umbes 6 g/päevas. 5-aminosalitsülaadid saab samuti manustada koos glükokortikoidiga. Eelistatult kasutatakse 5-aminosalitsülaati kombineeritud teraapias koos ühe muu eelnevalt
20 haavandilise koliidi ravimise juures avaldatud ainega, kuid samas võib seda kasutada ka Crohni tõve ravimiseks. Mesalamiini sulfoonamiidi mittesisaldavateks koostisteks on ASACOL®, CLAVERSA, SALOFALK, PENTASA®, DIPENTUM®, COLAZIDE ja ROWASA®, olemata samas nendega piiratud.
- Glükokortikoidid on olnud peamisteks PSH akuutsete raskekujuliste ägenemiste
25 ravimiteks alates aastast 1955, kui neid esimest korda haavandilise koliidi juures efektiivsetena demonstreeriti. Suukaudselt manustatava prednisooni saab manustada koos iga siin avaldatud ainega. Tavaliselt manustatakse 20 kuni 40 mg suukaudselt manustatavat prednisooni korra päevas. Glükokortikoidid saab samuti manustada intravenoosselt ja klistiiridega kombineeritult või samaaegselt või
30 vahetult enne/pärast anti-alfa-4 integriini aine manustamist. Näiteks hüdrokortisoon on saadaval sissejäävate klistiiridena (100 mg/60 ml) ja tavaliseks doosiks on üks 60 ml klistiir õhtu kohta 2 kuni 3 nädala jooksul. Seda saab muuta,

kui aineid kasutatakse kombineeritult siin avaldatud teraapiate ja ainetega nii, nagu on valdkonna asjatundjale mõistetav. Muude kasutatavate steroidide näideteks on prednisoloon metasulfobensoaat, tiksokortool pivalaat, flutikasoon propionaat, beklometasoon dipropionaat ja budenosiid.

- 5 PST, CT ja HK ravimisel on samuti kasulikud tioguaniini derivaadid. Nende ühendite näideteks on 6-merkaptopuriin (6-MP) ja satiopriin (IMURAN), olemata samas nendega piiratud. Kahte ravimit saab kasutada samaväärselt koos iga siin kirjeldatud alfa-4 integriini moduleeriva ainega.

- 10 Samuti vaadeldakse metotreksaadi (MTX) kasutamist koos siin avaldatud alfa-4 integriini reguleerivate ainetega. Eelistatult manustatakse MTX patsiendile intramuskulaarse süstiga (i.m.) koos anti-alfa-4 integriini ainega. MTX on efektiivne steroididest sõltuva CT ravimisel, kuid samas puudub sama efektiivsus HK korral. MTX saab manustada patsiendile kogustes, mis jäävad vahemikku umbes 15 kuni umbes 25 mg nädalas, või valdkonna asjatundja poolt määratud vajalikus
- 15 koguses.

Siin avaldatud alfa-4 integriini moduleerivate ainetega koos võib soolestiku patoloogiliste põletike ravimisel kasutada ka tsüklosporiine (näiteks SANDIMMUNE®, NEORAL®). Neid saab kasutada akuutse, raskekujulise HK ravimiseks, mis ei allu ravile glükokortikoididega.

- 20 Koos siin kirjeldatud alfa-4 integriini moduleerivate ainetega võib CT ravimiseks kasutada ka infliksimaabi (s.t REMICADE®). Infliksimaab on immunoglobuliin, mis seondub TNF ja neutraliseerib seeläbi selle aktiivsuse. Koos siin avaldatud alfa-4 integriini moduleerivate ainetega võib kasutada ka muid anti-TNF antikehasid nagu CDP571.

- 25 Koos siin kirjeldatud alfa-4 integriini moduleerivate ainetega võib HK, PSH ja CT ravimisel kasutada ka antibiootikume. Näiteks võib patsiente ravida metronidasooli või tsiprofloksasiini (või nende farmakoloogiliste ekvivalentidega) ja alfa-5 integriini vahendava aine kombinatsiooniga või seguga.

- 30 Samuti on hõlmatud PSH, CT ja HK tugiteraapiate kasutamine koos ainetega, mis vahendavad alfa-4 integriini või alfa-4 integriini sisaldavaid dimeere ja ravivad

seeläbi põletikulist soolehaigust, Crohni tõve ja haavandilist koliiti. Tugiteraapiate näideteks on valuvaigistid, antikolinergilised ained ja kõhukinnistid, olemata samas nendega piiratud. Selliste tugiteraapiate kaasamine võib osutada kasulikuks ravirežiimi alguses patsiendi sümptomite vähendamiseks ja nende elukvaliteedi

5 tõstmiseks. Tugiteraapiate näideteks on ka raua, folaadi ja vitamiini B12 suukaudne manustamine. Kõhukinnistite näideteks on difenoksülaad, kodeiin, loperamiid ja antikolinergilised ained (või nende farmakoloogilised ekvivalendid), mille saab manustada leebe haiguskäiguga patsientidele soole liikumissageduse vähendamiseks ja roojamisvajaduse leevendamiseks. Kolestüüramiini saab

10 kasutada sapisoola indutseeritud käärsoole sekretsiooni takistamiseks patsientidel, kes on enne siin kirjeldatud krooniliste režiimidega ravi juba läbinud piiratud niudesoole/käärsoole osaväljalõiked. Antikolinergiliste ainete piiramatuteks näideteks on klidiiniumbromiid, ditsükloamiin vesinikkloriid, belladonna tinktuur ja sarnased ning sellised ained on kasulikud alakõhu krampide, valu ja

15 roojamisvajaduse leevendamiseks.

SM ravimiseks võib anti-alfa-4 integriini ained (näiteks anti-alfa-4 integriini antikehad, väikese ühendina alfa-4 integriini antagonistid ja sarnased) liita muude ühendite või koostistega, mida SM seonduvate sümptomite ravimiseks, leevendamiseks või parandamiseks kasutatakse.

20 Muude ainete, mida SM seonduvate sümptomite ravimiseks, parandamiseks või leevendamiseks kasutatakse, piiramatuteks näideteks on müorelaksandid (näiteks diasepaam, tsüklobensapriin, klonasepaam, klonidiin, primidoon ja sarnased), antikolinergilised ained (näiteks propaanteliin, ditsükloamiin ja sarnased), kesknärvisüsteemi stimulandid (näiteks pemoliin), mittesteroidsed

25 põletikuvastased ained (NS nagu ibuprofeen, naprokseen ja ketoprofeen), interferoonid, immuunglobuliin, glatirameer (Copaxone®), mitoksantroon (Novantrone®), misoprostool, tuumori nekroosifaktori-alfa inhibiitorid (näiteks pirfenidoon, infliksimaab ja sarnased) ning kortikosteroidid (näiteks glükokortikoidid ja mineralokortikoidid).

30 Aineteks, mida tavaliselt sclerosis multiplexi ravimiseks kasutatakse, on interferoon beeta-1b (Betaseron®), interferoon beeta-1a (Avonex®), suur interferoon beeta-1a doos (Rebif), glatirameer (Copaxone®), immuunglobuliin,

mitoksantroon (Novantrone®), kortikosteroidid (näiteks prednisoon, metüülprednisoloon, deksametasoon ja sarnased). Kasutada võib ka muid kortikosteroide, mille näideteks on kortisool, kortisoon, fludrokortisoon, prednisoloon, 6 α -metüülprednisoloon, triamkinoloon ja beetametasoon.

- 5 Siin avaldatud ühendite ja koostistega koos kasutatavate ainete doseerimisvormid erinevad sõltuvalt patsiendist ja kasutatavast ravimikombinatsioonist. Näiteks interferoonid manustatakse tavaliselt analoogselt järgnevalt kirjeldatuga: interferoon beeta-1a (Avonex®) manustatakse kord nädalas 30 mg doosiga; interferoon beeta-1a manustatakse kolm korda nädalas koguses umbes 22 mg või
- 10 44 mg; ja interferoon beeta-1b (Betaseron®) manustatakse ülepäeviti koguses 250 mg (Durelli *et al.*, *Lancet* 359: 1453-60, 2002). Tavaliselt manustatakse interferoonid ägenemiste või remissioonidega sclerosis multiplexi korral. Seega koos siin avaldatud anti-alfa-4 integriini ainetega kasutatuna jäävad interferooni eelistatud kogused vahemikku umbes 0,1 mg kuni umbes 250 mg ja eelistatumalt
- 15 vahemikku umbes 0,5 mg kuni umbes 50 mg, sõltuvalt meetodist, kuidas aine koos muude siin avaldatud anti-alfa-4 integriini ühendite ja koostistega manustatakse.

- Käesolevas leiutises kasutamiseks sobivad NS või NSAID hõlmavad mitteselektiivsed COX inhibiitoreid ja selektiivseid COX inhibiitoreid, olemata
- 20 samas nendega piiratud. Mitteselektiivsete COX inhibiitorite näideteks on salitsüülhappe derivaadid (näiteks aspiriin, naatriumsalitsülaadid, koliinmagneesiumtrisalitsülaad, salsalaad, diflunisaal, sulfasalasiin ja olsalasiin), paraaminofenooli derivaadid (näiteks atsetaminofeen), indooli ja indeeni äädikhapped (näiteks tolmetiin, diklofenak ja ketorolak), heteroarüül äädikhapped
- 25 (näiteks abuprofeen, naprokseen, flurbiprofeen, ketoprofeen, fenoprofeen ja oksaprofiin), antraniilhapped või fenamaadid (näiteks mefenaamhape ja meklofenaamhape), enoolhape (näiteks oksimaamid nagu piroksikaam ja meloksikaam) ja alkanoonid (näiteks mabumetoon), olemata samas nendega piiratud. Selektiivsete COX-2 inhibiitorite näideteks on diarüül-asendatud
- 30 furanoonid (näiteks rofekoksiib), diarüül-asendatud pürasoolid (näiteks tselekoksiib), indool-äädikhapped (näiteks etodolak) ja sulfoonaniilidid (näiteks nimesuliid). NS manustatakse sageli koos interfeerooniga, et vähendada näiteks

Avonex® saavate patsientide poolt kogetavaid gripisarnaseid sümptomeid. Tavalisteks NS aineteks on naprokseen, ibuprofeen ja ketoprofeen. Patsientidele manustatakse sageli ka paratsetamooli. Vaadake näiteks Reess et al., 2002 *Mult. Scler.* 8: 15-8.

- 5 Glatirameeratsetaat (GA, Copaxone®) on sünteetiline molekul, mis inhibeerib müeliini peamiste valguga reageerivate T-rakkude aktiveerimist ja indutseerib T-raku repertuaari, mida iseloomustavad põletikuvastased toimed. Enamgi veel, glatirameeril on juurdepääs kesknärvisüsteemile (KNS), samas kui interferoon-beetal see puudub (Dhib-Jalbut, 2002 *Neurology* 58: S3-9; Weinstock-Guttman et al., 2000 *Drugs* 59: 401-10).

Mitoksantroon on antratseendiooni sünteetiline aine, mis on demonstreeritud olema efektiivne sekundaarse progresseeruva sclerosis multiplex'i ravimiseks (SP-MS). Kuid selle ravimi kasutamine on samuti piiratud selle kumulatiivse kardiotoksilisusega (Weinstock-Guttman *et al.*, 2000).

- 15 Tuumori nekroosifaktor-alfa (TNF- α) võib osutada demüelinatsiooni võtmetähtsusega tsütokiiniks (Walker et al., 2001 *Mult. Scler.* 7: 305-12). Seega võivad siin avaldatud ainete ja ühenditega koos kasutamiseks sobida ained, mis antagoniseerivad TNF- α funktsiooni või inhibeerivad selle sünteesi. See võib hõlmata nii anti-TNF- α antikehasid (näiteks infliksimaabi) kui ka aineid nagu
- 20 pifrenidooni. Pifrenidoon on mittepeptiidist ravim, mis vähendab TNF- α sünteesi ja blokeerib TNF- α retseptoreid. *Id.*

- Juba pikemat aega on enamuste demüelineerivate seisundite ja haiguste peamiseks ravimeetodiks olnud ACTH, glükokortikoidide ja kortikoidi steroidide kasutamine. Neid aineid kasutatakse nende ödeemi- ja põletikuvastaste toimete
- 25 pärast. ACTH manustatakse tavaliselt patsiendile 80 Ü, mis antakse intravenoosselt 500 ml 5% dekstroosis ja vees 3 päeval 6-8 tunni jooksul. Selle võib samuti manustada 40 Ü/ml intramuskulaarselt doosi suurusega 40 Ü iga 12 tunni kohta 7 päeva jooksul ja seejärel vähendatakse doosi suurust iga 3 päeva tagant. Vaadake näiteks S. Hauser, "Multiple sclerosis and other demyelinating
- 30 diseases," in Harrison's Principles of Internal Medicine 2287-95 (13. trükk., Isselbacher et al., toimetajad, 1994). Metüülprednisoon manustatakse tavaliselt

- aeglaselt 6 tunni jooksul ja eelistatult hommikuti 500 ml D5W-s. Tavapäraseks doosi suurus on 1000 mg päevas 3 päeva jooksul, 500 mg päevas 3 päeva jooksul ja 250 mg päevas 3 päeva jooksul. *Id.* Sageli manustatakse ka metüülprednisolooni-prednisooni kombinatsioon. Tavaliselt manustatakse kolme
- 5 päeva jooksul intravenoosselt umbes 1000 mg metüülprednisolooni, millele järgneb 14 päeva jooksul suukaudne prednisooni manustamine koguses 1 mg/kg päevas. Seega siin avaldatud ühendite ja koostistega koos kasutamisel võib steroidid manustada umbes 1 kuni 14 päeva jooksul (nagu on vajalik) kogustena, mis jäävad vahemikku umbes 1 kuni umbes 1000 mg/kg.
- 10 Demüelineerivate haiguste nagu SM kõrvaltoimeks on väsimus ja vähenenud kognitiivne funktsioon. SM seonduva väsimise ravimiseks kasutatakse sageli aineid nagu amantadiini vesinikkloriidi ja pemoliini (Geisler et al., 1996 Arch. Neurol. 53: 185-8).
- Selliste kombineeritud teraapiate eeliseks on, et need võimaldavad vähendada
- 15 hetkel mõningate ravimitega esinevaid klassi- ja ainespetsiifilisi kõrvaltoimeid. Interferoon-beeta klassispetsiifilisteks kõrvaltoimeteks on palavik, külmavärinad, müalgia, liigesevalu ja muud gripisarnased sümptomid, mis algavad 2-6 tundi pärast süsti ja lõppevad tavaliselt 24 tundi pärast süsti. Interferoon-beeta kutsub sageli esile ka eelnevalt olemas olevate SM sümptomite põgusat halvenemist.
- 20 Ainespetsiifilisteks kõrvaltoimeteks on süstimispiirkonna reaktsioon interferoon beeta-1b. Need kõrvaltoimed võib kõrvaldada, kohandades doosi suurust ja manustamisaega ja kirjutades välja sobivad atsetaminofeeni, mittesteroidsete põletikuvastaste ravimite (NS või NSAIDS) ja steroidide kombinatsioonid. Vaadake Munschauer et al., 1997 Clin. Ther. 19: 883-93.
- 25 Seega võivad ravimite kombinatsioonid, mis vähendavad konkreetse manustatava ravimi kogust, vähendada ka patsiendi poolt kogetavaid negatiivseid kõrvaltoimeid.
- Koos manustatuna võib väikeste ühenditena alfa-4 integriini antagonistid manustada samas koostises kui need muud ühendid või koostised, või erinevas koostises. Koos manustatuna manustatakse anti-alfa-4 antikehad üldiselt muudest
- 30 ühenditest ja koostistest eraldi koostises. Koos manustatuna võib anti-alfa-4 ained

manustada enne, pärast või samaaegselt muude ühendite ja koostistega, mida sümptomite ravimiseks, leevendamiseks või parandamiseks kasutatakse.

NÄITED

Järgnevad näited on lisatud, et võimaldada valdkonna asjatundjatel vastavaid teostusi paremini mõista ja tegemist on vastavate näidetega käesoleva leiutise teostuste valmistamiseks ja kasutamiseks, mis ei ole mõeldud selle, mida leiutise väljatöötajad oma leiutiseks peavad, ulatust piirama või märkima, et allpool kujutatud katsed on kõik või ainukesed sooritatud katsetest. Üritatud on garanteerida täpsus kasutatud numbrite suhtes (näiteks katsed, temperatuur jne), kuid mõnikord tuleks arvestada, et esineda võib mõningaid katsevigasid ja hälbeid. Juhul, kui ei ole teisiti näidatud, on osadeks osad massi alusel, molekulmassiks on keskmine molekulmass, temperatuur on näidatud Celsiuse skaalal ja rõhk on atmosfäärirõhu lähedane.

NÄIDE 1

15 KONTROLLITUD NATALISUMAABI KATSE ÄGENEMISTEGA SCLEROSIS MULTIPLEXI KORRAL

Patsientide populatsioon

26 kliinilist keskust USA-s, Kanadas ja Ühendkuningriigis registreerisid ajavahemikus 1999. aasta septembrist kuni 2000. aasta maini 213 patsienti. 20 Protokoll kiideti heaks asutuse järelevalvenõukogu või tsentraalsete ja lokaalsete ravieetika komiteede poolt. Kõik patsiendid andsid kirjaliku informeeritud nõusoleku. Uuringut kontrollis iseseisev ohutusjärelevalve komitee.

Sobivad patsiendid pidid olema vanuses 18 kuni 65 eluaastat koos Poseri kriteeriumi poolt defineeritud kliinilise või laboratoorsete tõendite poolt toetatava 25 kindla SM, mis oli kas ägenemiste-remissioonidega või sekundaarselt progresseeruv (Poser et al., 1983 Ann. Neurol. 13: 227-31; Lublin et al., 1996 Neurology 46: 907-11) ja vähemalt kahe ägenemisega eelneva kahe aasta jooksul, aluseks oleva Kurtzke laiendatud puudestaatus skaala (EDSS) (Kurtzke, 1983 Neurology 33: 1444-52) väärtusega vahemikus 2 kuni 6,5 ja minimaalselt

kolme T2-kaalutud aju MRI poolt näidatud kahjustusega. Patsiendid ei sobinud uuringusse juhul, kui nad said eelneva 3 kuu jooksul immuunvastust mahasuruvaid või moduleerivaid ravimeid või kogesid eelneva 30 päeva jooksul haiguse ägenemist või said süsteemselt kortikosteroide.

5 **Uuringu ülesehitus ja randomiseerimine**

Patsiendid määrati randomiseeritult ühte kolmest ravirühmast: 3 mg/kg natalisumaabi, 6 mg/kg natalisumaabi või platseebo vastavalt arvuti genereeritud ploki randomiseerimisgraafikule. Patsiendid said 28-päevaste intervallidega kuus intravenooset infusiooni ja seejärel läbisid nad kuus kuud kestva ohutusperioodi.

- 10 Uuringu läbiviija, kogu uuringu läbiviimisega seotud personal ja patsiendid ei teadnud ravi detaile.

Uuringu protseduurid ja lõpp-punktid

- 15 Suurendamata prootoni tihedusega T2-kaalutud ja Gd-võimendatud T1-kaalutud MRI ajuuuringud sooritati jälgimisfaasis (kuu -1), vahetult enne iga ravikorda (kuud 0-5) ja kuu pärast viimast ravikorda (kuu 6). Järgnevad MRI uuringud sooritati kuudel 9 ja 12. Võeti 46 pidevat 3 mm paksusega aksiaalset lõiku läbi kogu aju. MRI analüüs sooritada ühe keskmega uuringus, mis oli patsiendi ravi ja haiguse ajaloo suhtes pimestatud. Kahjustused tuvastati kõvadel koopiakujutistel kahe kogenud töötaja poolt, kes töötasid konsensusse põhimõttel.
- 20 Eeldatavaks peamise tulemuse mõõteks oli uute Gd-võimendatud kahjustuste arv 6 kuud kestnud raviperioodi jooksul, mis on määratletud kui periood kestusega esimesest infusioonist ühe kuu möödumiseni viimasest infusioonist. Muudeks hinnatud MRI parameetriteks olid püsivate Gd-võimendatud kahjustuste arv (võimendatud kahjustused, mis olid võimendatud ka eelneva kuise uuringu ajal);
- 25 Gd-võimendatud kahjustuste ulatus (möödetuna poolautomatiseeritud lokaalse lävendväärtusega Grimaud et al., 1996 Magn. Reson. Imaging 14: 495-505); uute aktiivsete kahjustuste arv (s.t uued Gd-võimendatud haavandid pluss uued või suurenevad võimendamata T2 kahjustused); ja aktiivsete uuringute arv (s.t sisaldavad ühte või rohkemat uut Gd-võimendatud kahjustust).

Kliinilisteks lõpp-punktideks olid ägenemiste sagedus ja muutused EDSS-s ning iseavaldatud üldine hinnang visuaal-analoogset skaalat (VAS) kasutades. Kõik kõrvaltoimed registreeriti. Patsiente uuriti kord kvartalis ja graafikuväliste külaskäikude käigus kahtlustatud ägenemiste kontrollimiseks; külastustel osalesid 5 nii raviarstid kui ka hindavad neuroloogid, kellest keegi ei teadnud patsiendi ravigraafikut. Raviarst koostas meditsiinilise ajaloo ja uuringu ning registreeris kõrvaltoimed. Hindav neuroloog hindas neuroloogilist seisundit ja määras ilma patsiendi raviajalugu või varasemaid EDSS skooore teadmata uue EDSS skoori.

Objektiivne ägenemine defineeriti kui uute või halvenevate SM sümptomite 10 akuutse episoodi esinemine, mis kestis vähemalt 48 tundi ja millele eelnes vähemalt 30 päeva kestev stabiilne periood. Sellega kaasnes samuti EDSS skoori vähemalt ühe punkti suurune suurenemine, kahe funktsionaalse süsteemi skoori (FSS) vähemalt ühe punkti suurune suurenemine või ühe FSS vähemalt kahe punkti suurune suurenemine võrreldes algväärtusega ja määratuna hindava 15 neuroloogi poolt. Samuti registreeriti neuroloogilised sümptomid, mis ei vastanud eelnevatele ägenemise kriteeriumitele, kuid mida hinnati raviva neuroloogi poolt ägenemise tekitamise alusel (kõik ägenemised).

Visuaal-analoogsel skaalal (VAS) märgiti patsiendid 10 cm pikkuse joone 20 asukohta, mis peegeldas hinnangut nende üldisele heaolule katse alguses ja pärast 3 ja 6 kuud kestnud ravi, kus kõrgemad skoorid peegeldasid paremat heaolu.

Patsiente jälgiti kliiniliselt kuuni 12. Patsiente, kes jätsid ravi poolele ja ei jõudnud katse lõpp-punkti, julgustati järgnevateks hindamisteks naasma.

Statistiline analüüs

25 Proovi suuruse hinnangud põhinesid uute Gd-võimendatud kahjustuste arvul, mida vaadeldi esimese 12 nädala jooksul pärast esimest infusiooni varasemas natalisumaabi kliinilises katses (Tubridy et al., 1999 Neurology 53: 466-72). Tuginedes varasema katse tulemustele ja kasutades kahepoolse kaheühmalise võrdluse jaoks sobivat proovi suuruse meetodikat 5% olulisuse tasemega ja 30 tuginedes Wilcoxon-Mann-Whitney statistikale (Noether, 1987 J. Amer. Stat.

Assoc. 82: 645-7) arvatati, et igasse rühma läks 80% võimsuse jaoks vaja umbes 73 patsienti.

Gd-võimendatud kahjustuste arvu esmane võrdlus 6 mg/kg natalisumaabi ja platseebo vahel, nagu ka Gd-võimendatud mahtusid hinnati Wilcoxon-Mann-Whitney taseme summa testiga. Ühest või mitmest sooritamata MRI uuringust tingitud puuduvaid väärtuseid hinnati, asendades puuduva väärtuse kahjustuste keskmise arvuga selle patsiendi saadaval olevates uuringutes. Patsientide, kes said eelneva 30 päeva jooksul süsteemseid kortikosteroide, MRI uuringud kõrvaldati ja koheldi puuduvate väärtustena. Doosi-reageeringu suhtes testimiseks kõikide kolme rühma andmeid kasutades rakendati Cochran-Mantel-Haenszel korrelatsiooni statistikat, kasutades rühmade jaoks samaväärsete vahedega skoare ja esmase tulemuse muutuja jaoks astme skoare.

Ägenemistega patsientide proportsioonide võrdlemiseks kasutati Pearsoni chi-rüüdu testi. Muutusi EDSS ja VAS alusväärtusest analüüsiti kahesuunalise ANOVA, kus uuringu keset ja ravirühmasid kasutati iseseisvate väärtustena.

Kõik analüüsid hõlmasid kõiki randomiseeritud patsiente ja järgisid ravikavatsuse põhimõtet. Kõik avaldatud P väärtused olid kahesuunalised. Demograafiliste omadustes, SM haiguse ajaloos, katsesse sisenemise EDSS ja MRI parameetrite hulgas puudusid kõigis kolmes rühma katse alguses olulised erinevused (tabel 1).

TABEL 1: RANDOMISEERITUD PATSIENTIDE DEMOGRAAFILISED JA ALGOMADUSED

| OMADUS | | Platseebo (N=71) | Natalisumaab | |
|---|-----------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | | 3 MG/KG (N=68) | 6 MG/KG (N=74) |
| Vanus, aastates | Keskmine | 42,9 | 42,8 | 44,9 |
| | Vahemik | 22-66 | 22-65 | 30-63 |
| Sugu N (%) | Mees | 25 (35,2) | 21 (30,9) | 15 (20,3) |
| | Naine | 46 (64,8) | 47 (69,1) | 59 (79,7) |
| MS kategooria N (%) | R-R | 45 (63,4) | 47 (69,1) | 52 (70,3) |
| | S-P | 26 (36,6) | 21 (30,9) | 22 (29,7) |
| EDSS | Keskmine | 4,40 | 4:21 | 4,32 |
| | Vahemik | 2,0-6,5 | 1,0-6,5 | 0,0-6,5 |
| Haiguse kestus | Keskmine | 10,2 | 11,6 | 13,1 |
| Aastad | Vahemik | 1-32 | 0-40 | 2-39 |
| Ägenemist arv | Keskmine | 3 | 2,9 | 3,1 |
| Viimase 2 aasta jooksul | Vahemik | 2-12 | 2-10 | 2-8 |
| Viimasest ägenemisest möödunud aeg | Keskmine | 6,5 | 7,2 | 6 |
| Kuud | Vahemik | 2-17 | 2-24 | 2-22 |
| Analüüsi T1-kaalutud MRI (kuu 1) | | 28 (40) | 29 (43) | 29 (40) |
| Uuringute arv (%) ühe või rohkema Gd-võimendatud kahjustusega | | | | |
| Gd-võimendatud ajukahjustuste arv | | | | |
| | Keskmine | 1,6 | 1,5 | 1,7 |
| | Vahemik | 0-42 | 0-18 | 0-23 |
| Algväärtuse T1-kaalutud MRI (kuu 0) | | | | |
| Ühe või rohkema uue Gd-võimendatud kahjustusega uuringute arv (%) | | 22 (31) | 29 (43) | 32 (43) |
| Gd-võimendatud ajukahjustuste arv | | | | |
| | Keskmine | 1,3 | 1,3 | 1,4 |
| | Vahemik | 0-28 | 0-32 | 0-12 |

Esmane tulemus

Platseebo rühma patsientidel avaldus 6 kuu pikkuse raviperioodi jooksul keskmiselt 9,6 uut Gd-võimendatud kahjustust. Natalisumaabi saavate rühmade vastavaks väärtuseks oli 3 mg/kg rühmas ($P < 0,0001$) 0,7 ja 6 mg/kg rühmas ($P < 0,0001$) vastavalt 1,1 (vaadake tabelit 2). See erinevus põhjustas 3 mg/kg ja 6 mg/kg rühmades vastavalt 93% ja 88% uute Gd-võimendatud kahjustuste vähenemise. Platseebo ja ravirühmade vaheline erinevus oli selge juba pärast esimest infusiooni (joonis Fig. 1).

TABEL 2: MRI AKTIIVSUSE KOKKUVÕTE RAVI KÄIGUS (KUUD 1-6) JA PÄRAST SEDA (KUUD 9 JA 12)

| | Platseebo | 3 MG/KG | 6 MG/KG | P väärtus* |
|---|------------------|----------------|----------------|-----------------------------------|
| <u>Uued võimendatud kahjustused K1-6</u> | | | | |
| Keskmine | 9,6 | 0,7 | 1,1 | (i) $< 0,0001$ |
| Mediaan | 2,0 | 0 | 0 | (ii) $< 0,0001$ |
| Standardhälve | 27,4 | 2,1 | 2,7 | |
| <u>Püsivad võimendatud kahjustused K1-6</u> | | | | |
| Keskmine | 3,6 | 0,8 | 1,3 | $< 0,0001$ |
| Mediaan | 1 | 0 | 0 | |
| Standardhälve | 6,5 | 1,9 | 2,6 | |
| <u>Uued aktiivsed kahjustused K1-6</u> | | | | |
| Keskmine | 9,7 | 0,8 | 1,1 | $< 0,0001$ |
| Mediaan | 2,0 | 0 | 0 | |
| Standardhälve | 27,4 | 2,2 | 3 | |
| Aktiivseid uuringuid K1-6 (%) | 39% | 9% | 11% | (i) $< 0,0001$ (ii) $< 0,0001$ |
| <u>Võimendatud kahjustuste maht K1-6 (mm³)</u> | 1169,0 | 156 | 279,0 | (i) 0,005 |
| Keskmine | 266 | 0 | 0 | (ii) 0,01 |
| Mediaan | 2666 | 359,0 | 632,0 | |

| Standardhälve | | | | |
|--|-------|-------|------|-----------|
| <u>Uued võimendatud kahjustused</u> | | | | |
| <u>K9 ja 12</u> | | | | |
| Keskmine | 2,5 | 2,6 | 2,1 | (i) 0,90 |
| Mediaan | 1,0 | 0,5 | 0 | (ii) 0,59 |
| Standardhälve | 4,37 | 4,58 | 4,96 | |
| <u>Püsivad võimendatud kahjustused K9 ja 12</u> | | | | |
| Keskmine | 0,2 | 0,1 | 0,1 | 0,029 |
| Mediaan | 0 | 0 | 0 | |
| Standardhälve | 0,64 | 0,32 | 0,3 | |
| <u>Uued aktiivsed kahjustused K9 ja 12</u> | | | | |
| Keskmine | 2,7 | 2,8 | 2,3 | 0,424 |
| Mediaan | 1,0 | 0,5 | 1,0 | |
| Standardhälve | 4,49 | 5,69 | 5,11 | |
| Aktiivsed uuringud K9 ja 12 (%) | 42% | 40% | 35% | |
| <u>Võimendatud kahjustuse maht</u> | | | | |
| <u>K9 ja 12 (mm³)</u> | | | | |
| Keskmine | 427,0 | 323 | 233 | 0,260 |
| Mediaan | 88,0 | 31,0 | 0 | |
| Standardhälve | 797,0 | 591,0 | 686 | |
| * (i) platseebo ja 3 mg/kg natalisumaabi võrdlus; (ii) platseebo ja 6 mg/kg natalisumaabi võrdlus. | | | | |

Sekundaarsed MRI tulemused

Eksisteeris oluline ja registreeritud vähenemine püsivate võimendatud kahjustuste, uute aktiivsete kahjustuste, võimendatud kahjustuste kogusuuruse ja aktiivsete uuringute protsendi koguhulgas kuust 1 kuuni 6 (tabel 2; joonis Fig. 2).

5 Kliinilise efektiivsuse tulemused

Kuue kuu pikkuse raviperioodi jooksul täheldati 26-l platseebo patsiendil 71-st kokku 35 ägenemist; 13-l 3 mg/kg natalisumaabi saaval patsiendil 68-st täheldati

kokku 18 ägenemist; ja 14-l 6 mg/kg saaval patsiendil 74-st täheldati kokku 15 ägenemist ($P=0,05$, platseebo võrreldes kõikide natalisumaabiga ravitud patsientidega). Rakendades rangemaid objektiivseid ägenemise kriteeriumeid, olid tulemused samaväärse tugevusega: 18 ägenemist 15-l platseebo patsiendil; 3 ägenemist 3-l patsiendil, kes said 3 mg/kg natalisumaabi; 8 ägenemist 8-l patsiendil, kes said 6 mg/kg natalisumaabi ($P=0,05$). Platseebo rühmas vajab rohkem ägenemisi steroididega ravi kui ravirühmades (22 platseebo rühmas; 5 rühmas, mis sai 3 mg/kg natalisumaabi; ja 7 rühmas, mis sai 6 mg/kg natalisumaabi, $P=0,007$, platseebo võrreldes kõikide natalisumaabiga ravitavate patsientidega).

VAS alusel ei avaldanud platseeborühma patsiendid mingisuguseid muutuseid, samas kui natalisumaabi rühmades paranes 6. kuuks üldine heaolu ja selleks hetkeks oli rühmade vaheline erinevus oluline ($P=0,033$, platseebo võrreldes kõikide natalisumaabi saanud patsientidega). Ravi käigus ei täheldatud üheski rühmas olulisi EDSS muutusi.

Antikeha kontsentratsioon ja retseptori küllastumine

Iga külastuse käigus võeti patsientidelt seerumiproovid, millel sooritati kvantitatiivselt natalisumaabi vastu suunatud antikehade määramiseks ensüümne immunosorbenttest (ELISA). Enne iga infusiooni ja 2 tundi, 24 tundi, 1, 2 ja 3 nädalat pärast esimest ja viimast infusiooni mõõdeti iga ravirühma 12 kuni 14 patsiendi suuruses alamrühmas ka natalisumaabi tasemed seerumis ja retseptori hõivatus natalisumaabiga.

Seerumi antikeha kontsentratsioonid määrati ELISA analüüsi kasutades. Lühidalt, lahuses, mis sisaldas naatriumbikarbonaati (pH tasemeni 8,3), valmistati 2,0 µg/ml haardeantikeha, mis seondub spetsiifiliselt natalisumaabiga, lahus. 100 µl antikeha lahust viidi Costar 96-reservuaariga mikrotitrimisplaadi igasse reservuaari. Plaat kaeti plaadi sulgemisteibiga ja inkubeeriti 12-26 tundi toatemperatuuril. Seejärel plaat aspireeriti, igasse reservuaari lisati 200 µl blokeerimispuhvrit (0,25% kaseiini PBS-s, pH 7,4) ja materjali inkubeeriti täiendava tunni jooksul toatemperatuuril. Plaadid kuivatati seejärel ja hoiustati edasise kasutamiseni või pesti korra 300 µl pesupuhvriga (TBS, pH 7,5, mis sisaldab 0,05% Tween-20). Kui plaadid kuivatati,

hüdraaditi need uuesti vahetult enne kasutamist 300 µl pesupuhvri lisamisega igasse reservuaari ja 1-2 minuti pikkuse inkubeerimisega. Plaate aspireeriti ja pöörati liigse niiskuse absorbeerimiseks koepaberile.

5 Testitavaid proove lahjendati enne ELISA kaseiinist lahjendis (0,25% kaseiini fosfaat-puhverdatud soolalahuses koos 0,05% Tween 20, pH 7,4). Tavaliselt testiti iga proovi kahte või kolme lahjendust kindlustamiseks, et natalisumaabi väärtused olid täpsed. Samuti valmistati lahjenduse kontrollproovid, kasutades ülejäänud etappide täpsuse jälgimiseks teadaolevaid natalisumaabi koguseid.

10 Igasse reservuaari lisati 100 µl viitestandardit, testitavat proovi või lahjenduse kontrollproovi ja plaati inkubeeriti 60-75 minutit toatemperatuuril. Plaate pesti kolm korda pesupuhvriga ja ülejäänud niiskus eemaldati. Igasse reservuaari lisati 100 µl värskelt lahjendatud hiire anti-inimese IgG4-aluselist fosfataasi konjugaati ja plaate inkubeeriti täiendavad 60 minutit toatemperatuuril. Pärast inkubeerimist pesti plaate neli korda pesupuhvriga ja ülejäänud niiskus eemaldati. Järgnevalt lisati 15 kalibreeritud mitme kanaliga pipetti kasutades 100 µl fluorestsentsi substraati A ja plaate inkubeeriti 45-60 minutit toatemperatuuril. Iga reservuaari tasemed määrati fmax fluorestsentsi mikroplaadi lugejaga, kasutades SOFTmax Pro versiooni 1.31 protokollifaili conc102.ppr.

20 Tulemused on toodud joonistel Fig. 3 ja 4. Nagu nendel on joonistel näidatud, vähenesid natalisumaabi tasemed doseerimiste vahepeal ja kuuks 7 või 8 (s.t 2 kuni 3 kuud pärast viimast doosi) oli antikeha enamustes patsientides tuvastamatu.

25 Lisaks seerumi antikeha kontsentratsioonile määrati doseerimisuuringu käigus FACS analüüsi kasutades ka retseptori küllastumise tasemed ja täpsemalt VLA-4 küllastumise tasemed. VLA-4 küllastumise määramine sooritati kaudse immunoloogilise analüüsiga voolutsütomeetriat kasutades.

30 Umbes 1 ml patsiendi vereproovi alikvooditi kahte 15 ml polüpropüleentuubi ja seejärel lisati tuubi 14 ml märgiseni külma pesupuhvrit (inimese seerum [Scantibodies Laboratory, Inc. osa nr 3SH341], lahjendatud PBS 3% juurde). Tuube tsentrifugeeriti 5 minutit kiirusel 2200 pööret minutis temperatuuril 10-15 °C ja

seejärel vedelik aspireeriti ja utiliseeriti. Rakukogum suspendeeriti uuesti külmas pesupuhvris 1 ml kogumahuni.

Pesupuhvris valmistati 500 µg/ml natalisumaabi viiteks kasutatavat emalahust. Esimesse tuubi lisati 20 µl lahjendatud natalisumaabi emalahust ja teise tuubi lisati
5 20 µl pesupuhvrit. Mõlemat tuubi inkubeeriti pimedas 30 minutit jääl. Pärast inkubeerimist täideti tuubid 14 ml märgiseni pesupuhvriga ja tsentrifuugiti 5 minutit kiirusel 2200 pööret minutis külmas. Ülemine vedelikukiht aspireeriti ja pesuetappi korraldi. Pärast teist pesu suspendeeriti rakud uuesti pesupuhvris 1 ml märgiseni.

Igasse tuubi lisati 10 µl R-fükoerütriini (PE)-konjugeeritud anti-inimese CDw49d
10 antikeha (Pharmingen, Cat. #31475X) ja tuube töödeldi õrnalt keerises. Seejärel inkubeeriti tuube 10-15 minutit pimedas temperatuuril 2-8 °C. Pärast inkubeerimist lisati 2 ml 1x lahustamislahust (pH 7,4) ja iga tuubi töödeldi õrnalt keerisega. Seejärel inkubeeriti tuube 10-15 minutit temperatuuril 2-8 °C jääl, tsentrifuugiti 5 minutit külmas ja ülemine vedelikukiht aspireeriti rakukogumist. Rakukogum
15 suspendeeriti uuesti 4 ml külmas värvimispuhvris ja tuube tsentrifuugiti uuesti külmas kiirusel 2200 pööret minutis. Ülemine vedelikukiht eemaldati seejärel väga ettevaatlikult, lisati 0,5 ml fikseerivat lahust (Ortho Fixative, pH 7,6) ja tuube töödeldi koheselt keerisega, et kindlustada rakkude uuesti suspendeerimine fikseerimisaines. Tuubid kaeti FACS analüüsini alumiiniumkilega.

20 Igas proovis analüüsiti seejärel VLA-4 retseptori küllastumist koos ja ilma analüüsitud natalisumaabiga, kasutades selleks FACS Calibur voolutsütomeetrit ja CellQuest™ tarkvara. CellQuest™ tarkvara võimaldab voolutsütomeetri andmete omandamist ja analüüsi.

Retseptori küllastustasemed on näidatud joonisel Fig. 5. Retseptori küllastumise
25 tasemed kuude 1-4 jaoks määrati enne selle kuu doseerimist. Kuiste doseerimisintervallidega saadud retseptori küllastumise tasemed olid püsivalt üsnagi kõrged ja nendest kroonilistest tasemetest piisas, et säilitada patoloogilise põletiku ja haiguse seonduvate füsioloogiliste tunnuste mahasurumine. Keskmiselt oli küllastumistasemete keskmine väärtus kuu jaoks vähemalt 67% ja
30 mediaanväärtus vähemalt 75%. Nendest tasemetest piisas ajukahjustuste mahasurumiseks ravitavatel patsientidel (vaadake joonist Fig. 1). Uuringus

määratud infusioonieelne küllastumise minimaalne tase kuust 2 kuuni 5 (ja nädalal 21 pärast 5. kuu manustamist) on eriti madal võrreldes üksiku patsiendi, kellel esines antikeha reageering natalisumaabile, keskmiste ja mediaanväärtustega.

5 Koos retseptori küllastumise tasemete langusega patsientides langes ka ravi efektiivsus. 42% keskmisi retseptori küllastumistasemeid ja 41% retseptori küllastumise mediaanväärtusi ravitud populatsioonis ajukahjustuste mahasurumisega patsientide populatsioonis ei seostatud (vaadake jooniseid Fig. 2 ja 5) ning seega on efektiivseks patoloogilise põletiku mahasurumiseks aineid nagu alfa-4 inhibiitoreid kasutades vajalik sellest tasemest kõrgem krooniline retseptori küllastustase.

Ohutus ja talutavus

SM patsiendid talusid hästi korduvat natalisumaabiga ravi (3 või 6 mg/kg doosiga) kuue kuu pikkuse raviperioodi jooksul. Igas rühmas koges sarnane arv patsiente ravist tingitud kõrvaltoimeid. Teatud kõrvaltoimed esinesid natalisumaabi juures sagedamini kui platseebo korral, samas ei olnud erinevus oluline (tabel 3).
15 Natalisumaabi variantides täheldati kuue kuu pikkuse raviperioodi jooksul pidevat leebet lümfotsütoosi.

TABEL 3: KÕRVALTOIMED, MIS ESINESID NATALISUMAABI SAAVATEL PATSIENTIDEL SAGEDAMINI KUI PLATSEEBO-RÜHMAS*

20

| | Platseebo (71) | 3 MG/KG (68) | 6 MG/KG (74) |
|--|-----------------------|---------------------|---------------------|
| Kõrvaltoimetega patsientide koguarv | 68 (96%) | 62 (91%) | 70 (95%) |
| Kogu keha infektsioon | 10 (14%) | 14 (21%) | 14 (19%) |
| Sisikond | | | |
| Puhitus | 0 | 4 (6%) | 0 (0%) |
| Närvisüsteem | | | |
| Tsirkumoraalne paresteesia | 1 (1,0%) | 5 (7%) | 2 (3%) |
| Hingamisteed | | | |
| Sinuiit | 3 (4%) | 7 (10%) | 3 (4%) |
| Farüngiit | 8 (11%) | 10 (15%) | 15 (20%) |

| | | | |
|---|----------|----------|----------|
| Nahk ja jäsemed | | | |
| Lööve | 4 (6%) | 6 (9%) | 8 (11%) |
| Kuse/suguteed | | | |
| Infektsioon | 10 (14%) | 14 (21%) | 11 (15%) |
| *Tabelisse sobimiseks oli vajalik platseebo ja ühe natalisumaabi rühma vahel vähemalt 5% kõrvaltoimete esinemine. | | | |

Puudusid olulised erinevused tõsiste kõrvaltoimete (SAE) vahel platseebo ja ravirühmades (s.t 7 platseebo rühma patsiendil esines 11 SAE; 5 patsiendil, kes said 3 mg/kg natalisumaabi esines 5 SAE; ja 3 patsiendil, kes said 6 mg/kg natalisumaabi, esines 4 SAE). Nendest SAE neli loeti immuunsuse poolt vahendatuks ja uuringu ravimiga seotuks. 3 mg/kg rühmas esines üks anafülaktiline reaktsioon koos urtikaaria ja bronhospasmidega, mis kõrvaldati kiiresti antihistamiinide ja steroidraviga. Esines kolm seerumihaiguse juhtu, üks igas rühmas, k.a platseebo. Ainult ühe sündmusega kaasnes muutus täienduse tasemetes ja kõik juhtus samas uurimispiirkonnas. Kokkuvõtvalt mõjutasid need sündmused vähem kui ühte 250-st infusioonist.

Rühmade vahel puudusid erinevused patsientide hulgas, kes katkestasid ravi kõrvaltoimete tõttu (s.t 3 platseebo rühmas; 4 rühmas, mis sai 3 mg/kg; ja 3 rühmas, mis sai 6 mg/kg). Uuringu käigus esines platseebo rühmas üks sekundaarse tähtsusega surmajuhtum, mis oli tingitud veririnnaga pleuraalsest kartsinomatoosist.

Hinnati ka antikeha moodustumise kiirust. Kokku tekkisid anti-natalisumaabi antikehad 15 natalisumaabi saanud patsiendil (11%): 13 raviperioodi käigus ja 2 ravijärgsel perioodil. Anti-natalisumaabi antikehade olemasolu võimalik kliiniline tähtsus ei ole hetkel teada.

Natalisumaabi maksimaalsed kontsentratsioonid seerumis sõltusid doosi suurusest ja korduva doseerimise korral ei täheldatud olulist akumulatsiooni. 3 mg/kg natalisumaabi saavatel patsientidel avaldus raviperioodi jooksul suurem kui 80% VLA-4 retseptori küllastumine; retseptori püsivus oli kõrgem (umbes 90%) ja pikem patsientidel, kes said 6 mg/kg natalisumaabi.

Ravijärgne periood: kuud 6-12

Uute võimendatud kahjustuste ja aktiivsete uuringute (kuud 9 ja 12 liidetult) koguarv oli kõigis kolmes rühmas sarnane (tabel 2). 6 mg/kg rühmas oli 9. kuul väiksema aktiivsuse suunitlus. Kolme rühma vahel puudus oluline erinevus
5 avaldatud kliiniliste ägenemiste koguarvus: 24 platseebo rühmas; 24 rühmas, kes said 3 mg/kg; ja 26 rühmas, kes sai 6 mg/kg, või ägenemiste arvus määratuna eelnevalt piiritletud objektiivse kriteeriumiga.

See uuring oli esimene, mille käigus saadi inimestel tugevad MRI ja kliinilised tõendid, et alfa-4 integriini vahendatud leukotsüütide adhesiooni selektiivne
10 inhibeerimine ja juhtimine on efektiivseks meetodiks SM krooniliseks ravimiseks. Alfa-4 integriini spetsiifilise inimese jaoks kohandatud monoklonaalse antikeha natalisumaabi mõlemad doosi suurused demonstreerisid võrreldes platseeboga suure statistilise olulisega toimeid uute Gd-võimendatud põletikuliste ajukahjustuste mahasurumisel SM patsientidel kuue kuu pikkuse raviperioodi
15 jooksul. Nende kahjustuste vähenemist natalisumaabi saavatel patsientidel täheldati kuu pärast esimest infusiooni ja see püsis läbi kogu raviperioodi. Mõlema doosi suuruse jaoks oli vähenemine umbes 90% ja selle näol on tegemist tugevama toimega kui beeta-interferoonide juures avaldatud 50 kuni 70% vähenemine (MS/MRI Analysis Group, 1995 Neurology 4: 1277-1285; Jacobs et
20 al., 1996 Ann. Neurol. 39: 285-294; ja PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon beta-1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group, 1998 Lancet 352: 1498-1504).

Enamgi veel, natalisumaabi mõju käesoleva katse MRI tulemustele toetavad ka kliinilised vaatlused. Selle uuringu eesmärgiks ei olnud mõju demonstreerimine
25 kliinilistele tulemustele. Kuid hoolimata sellest põhjustas natalisumaabiga ravi olulise vähenemise ägenemissageduses ja suurendas märgatavalt patsientide heaolu. Kui vaadelda kõiki avaldatud kliinilisi ägenemisi, esines kuue katsekuu jooksul mõlemas natalisumaabi rühmas oluliselt vähem ägenemisi kui platseebo rühmas. Nende episoodide olulist vähenemist täheldati samuti eelnevalt
30 määratletud ägenemiskriteeriumit kasutades; tegemist on rangema mõõtmega, kuna see nõuab objektiivsete märkide muutmist. Natalisumaabi mõju ägenemistele ületab hetkel heaks kiidetud SM ravimeetodite mõju, mille toimeks

on umbes 30% (MS/MRI Analysis Group, *supra*; Jacobs *et al.*, *supra*; PRISMS Study Group, *supra*; Johnson *et al.*, 1995 Neurology 45:1268-76).

5 Oluline on, et pärast ravi lõppu ei täheldatud natalisumaabi rühmades uutele MRI kahjustustele või ägenemistele avalduva mõju langust. Lisaks olid 6 kuud kestvad igakuised natalisumaabi infusioonid hästi talutavad ja seostusid platseeboga sarnase ohutusprofiiliga ning olid krooniliseks SM raviks aktsepteeritavad.

10 Selle uuringu tulemused toetavad täiendavalt alfa-4 integriini ja seda avaldavate immuunrakkude rolli SM patsientide akuutsete põletikuliste ahjukahjustuste patogeneesis. Uute Gd-võimendatud kahjustuste vähenemine oli näha juba ühe kuu möödudes ravi algusest. See tähelepanek võimaldab soovitada, et natalisumaab omab varast toimet kahjustuste tekkele, takistades uute kahjustuste teket.

15 Kokkuvõtvalt võib öelda, et natalisumaab on demonstreerinud selles platseebo kontrollitud katses ägenemistega SM patsientide kliiniliselt olulistel näitajatel tugevaid toimeid. 6 kuu jooksul taluti ravi hästi. Uuringu käigus täheldatud natalisumaabi kasulikud toimed uute põletikuliste KNS kahjustuste tekkele, kliiniliste ägenemiste esinemisele ja patsientide heaolu paranemisele näitavad toimete vaatlemise potentsiaali hetkel käimas olevates pikemaajalistes uuringutes.

Patendinõudlus

1. Antikeha või selle immunoloogiliselt aktiivse fragmendi, mis seondub alfa-4 integriini või alfa-4 integriini sisaldava dimeeriga, hulgast valitud aine kasutamine krooniliselt manustatava ravimkoostise valmistamiseks sclerosis multiplexi poolt põhjustatud kroonilise patoloogilise põletiku vähendamiseks, kus aineks on natalisumaab, mis manustatakse iga kahe nädala tagant või kuiselt vähemalt 6 kuu jooksul patsiendile koguses 2 kuni 8 mg/kg patsiendi kehamassi kohta.
2. Kasutamine vastavalt nõudluspunktile 1, mis **erineb** selle poolest, et krooniline manustamine kestab vähemalt 12 kuud.
- 10 3. Kasutamine vastavalt mis tahes nõudluspunktile 1 või 2, mis **erineb** selle poolest, et aine seondub alfa-4 integriini dimeeridega.
4. Kasutamine vastavalt mis tahes nõudluspunktile 1-3, mis **erineb** selle poolest, et alfa-4 integriini dimeeriks on alfa-4 beeta-1.

Uute gd-võimendatud kahjustuste üldine keskmine arv

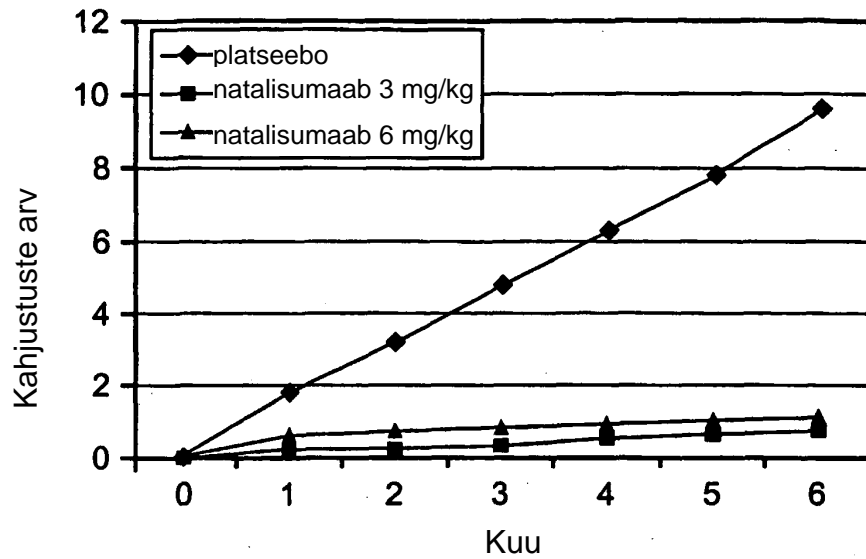


FIG 1

MRI uuringute proportsioon uute võimendatud kahjustuste suhtes

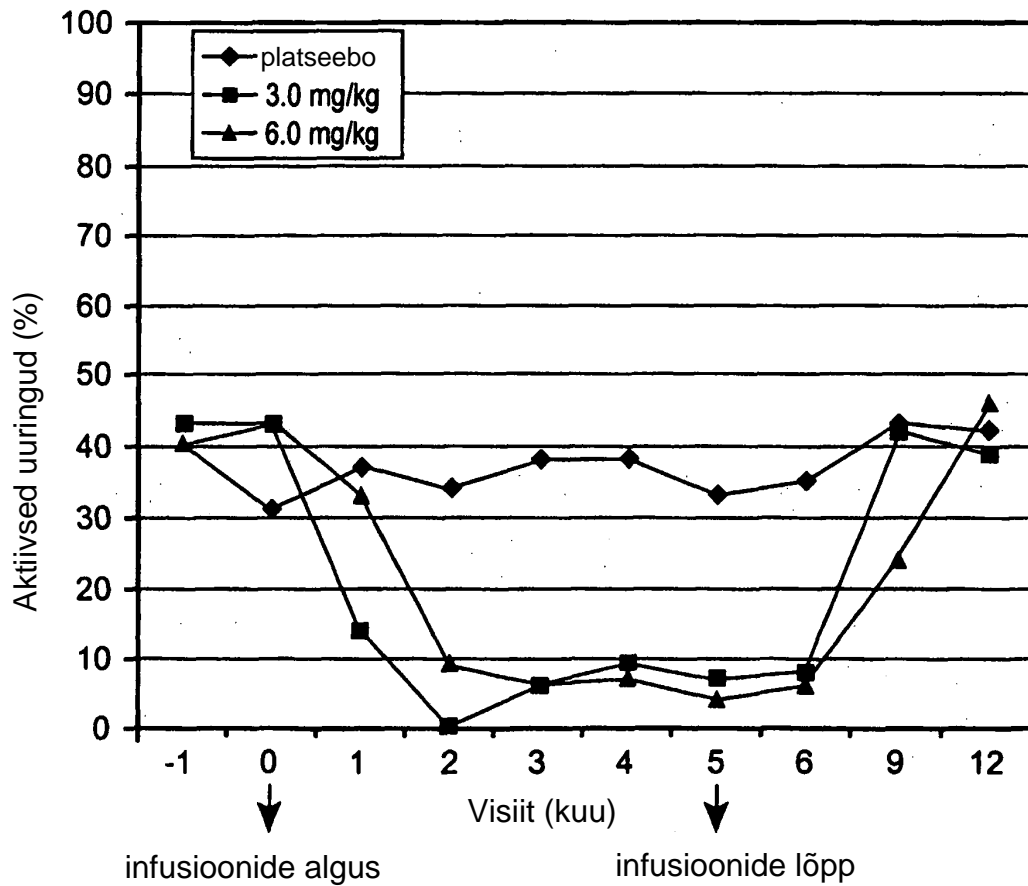


FIG 2

Seerumi natalisumaabi kontsentratsioonide kokkuvõte 3,0 mg/kg natalisumaabi korral

| Patsient | Kuu 0 | | | | Kuu 1 | | | |
|----------|-----------------|---------|------------|------------|------------|-----------|-----------|-----------|
| | infusioonieelne | 60 min. | 2 tundi | 24 tundi | Nädal 1 | Nädal 2 | Nädal 3 | Kuu 1 |
| 01 | <0.13 | 65.0 | 74.7 µg/ml | 43.4 µg/ml | 11.6 µg/ml | 4.6 µg/ml | 4.9 µg/ml | 2.3 µg/ml |
| 02 | <0.13 | 56.1 | 72.2 | 39.2 | 17.7 | 11.2 | ND | 3.6 |
| 03 | <0.13 | 58.5 | 60.0 | 34.4 | 10.6 | 5.8 | 3.6 | 1.3 |
| 04 | <0.13 | 77.9 | 97.3 | 54.1 | 16.2 | 7.2 | 2.3 | 0.2 |
| 05 | <0.13 | 75.6 | 67.5 | 42.0 | 17.3 | 10.7 | 8.0 | 5.4 |
| 06 | <0.13 | 72.0 | 73.7 | ND | 10.7 | 4.0 | 1.5 | 1.6 |
| 07 | <0.13 | 16.9 | 30.7 | 23.7 | 13.0 | ND | ND | 3.5 |
| 08 | <0.13 | 54.3 | 58.4 | 49.0 | 15.7 | 9.9 | 6.7 | 4.0 |
| 09 | <0.13 | 82.7 | 74.2 | 62.6 | 18.6 | ND | 3.5 | 2.2 |
| 10 | <0.13 | 84.3 | 84.1 | 64.2 | 22.7 | 10.7 | 7.3 | 3.9 |
| 11 | <0.25 | 62.5 | 72.6 | 42.0 | 14.3 | 6.8 | 4.1 | 2.2 |
| 12 | <0.25 | 102.7 | 80.6 | 82.1 | 25.5 | 13.7 | 5.8 | 3.5 |
| 13 | <0.13 | 76.0 | 67.8 | 44.3 | 13.7 | 8.6 | 5.3 | 2.7 |
| 14 | <0.13 | 66.4 | 70.2 | 36.5 | 11.0 | 6.3 | 3.9 | 2.0 |
| Kuu 0 | | | | | | | | |
| | infusioonieelne | 60 min. | 2 tundi | 24 tundi | Nädal 1 | Nädal 2 | Nädal 3 | Kuu 1 |
| N | 14 | 14 | 14 | 13 | 14 | 12 | 12 | 14 |
| Keskmine | 0.0 | 67.9 | 70.3 | 47.5 | 15.6 | 8.3 | 4.7 | 2.7 |
| SD | 0.00 | 19.60 | 14.96 | 15.18 | 4.50 | 2.98 | 1.97 | 1.33 |

FIG. 3A

Seerumi natalisumaabi kontsentratsioonide kokkuvõte 3,0 mg/kg natalisumaabi korral

| Patsient | Kuu 5 | | | | | | |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------------|---------|---------|----------|
| | Kuu 2 | Kuu 3 | Kuu 4 | infusioonieelne | 60 min. | 2 tundi | 24 tundi |
| 01 | 2.4 µg/ml | 1.4 µg/ml | 1.9 µg/ml | ND | ND | ND | ND |
| 02 | 7.1 | 8.0 | 11.1 | 7.8 | 65.1 | 82.3 | 50.5 |
| 03 | 2.3 | 2.9 | 2.7 | 1.2 | 53.9 | 54.7 | 40.6 |
| 04 | <0.13 | <0.13 | <0.13 | <0.13 | 24.6 | 21.4 | 2.5 |
| 05 | 8.1 | 11.4 | 1.8 | 0.2 | ND | ND | ND |
| 06 | 1.4 | 1.8 | 1.9 | 2.0 | 81.9 | 90.3 | 51.9 |
| 07 | 1.7 | 2.5 | 2.2 | 2.6 | 36.0 | 62.7 | 22.2 |
| 08 | 4.5 | 5.7 | 2.0 | 4.7 | 76.0 | 65.0 | ND |
| 09 | 3.4 | 3.9 | 3.3 | 3.3 | 59.7 | 64.8 | 48.5 |
| 10 | 2.9 | 3.3 | 6.1 | 4.5 | 82.0 | 79.6 | 59.9 |
| 11 | 2.7 | 4.6 | 5.5 | 3.0 | 82.6 | 79.3 | 55.6 |
| 12 | 2.0 | 1.9 | 1.9 | 3.6 | 68.8 | ND | 65.2 |
| 13 | 4.3 | 4.3 | 3.6 | 5.0 | 74.9 | 55.4 | 47.0 |
| 14 | 2.1 | 1.6 | 1.9 | 3.0 | 70.3 | 63.0 | 35.5 |
| | | | | | | | Kuu 5 |
| SRN | | | | | | | |
| | Kuu 2 | Kuu 3 | Kuu 4 | infusioonieelne | 60 min. | 2 tundi | 24 tundi |
| N | 14 | 14 | 14 | 13 | 12 | 11 | 11 |
| Keskmine | 3.2 | 3.8 | 3.3 | 3.1 | 64.7 | 65.3 | 43.6 |
| SD | 2.19 | 2.98 | 2.74 | 2.11 | 18.51 | 18.61 | 18.03 |

FIG 3B

Seerumi natalisumaabi kontsentratsioonide kokkuvõte 3,0 mg/kg natalisumaabi korral

| Patsient | Nädal 21 | Nädal 22 | Nädal 23 | Kuu 6 | Kuu 7 | Kuu 8 | Kuu 9 | Kuu 10 | Kuu 12 |
|----------|----------|----------|----------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|
| 01 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 02 | 33.8 | 21.4 | 10.3 | 8.1 | 0.4 | <0.13 | <0.13 | ND | ND |
| 03 | 21.3 | 9.4 | 4.7 | 5.1 | <0.25 | <0.13 | <0.13 | ND | ND |
| 04 | <0.13 | <0.13 | <0.13 | <0.13 | <0.25 | <0.13 | <0.13 | ND | ND |
| 05 | ND | ND | ND | 0.2 | <0.25 | <0.13 | <0.13 | ND | ND |
| 06 | 21.5 | 7.6 | 3.9 | 2.4 | <0.13 | <0.13 | <0.13 | ND | ND |
| 07 | ND | 11.0 | 6.2 | 3.7 | 0.3 | <0.13 | ND | ND | ND |
| 08 | 19.1 | 13.2 | 9.6 | 5.3 | 0.4 | <0.13 | <0.13 | <0.13 | ND |
| 09 | 33.7 | 13.1 | 6.1 | 3.8 | <0.13 | ND | ND | ND | ND |
| 10 | 29.9 | 16.8 | ND | 7.4 | 0.5 | ND | ND | ND | ND |
| 11 | ND | 18.4 | 10.5 | 6.6 | 0.7 | <0.13 | ND | ND | ND |
| 12 | ND | 9.9 | 6.3 | 3.5 | <0.13 | <0.13 | ND | ND | ND |
| 13 | 22.1 | 13.3 | 9.1 | 4.6 | <0.13 | <0.13 | ND | ND | ND |
| 14 | 14.1 | 8.2 | 9.4 | 4.7 | <0.13 | ND | ND | ND | ND |
| SRN | Nädal 21 | Nädal 22 | Nädal 23 | Kuu 6 | Kuu 7 | Kuu 8 | Kuu 9 | Kuu 10 | Kuu 12 |
| N | 9 | 12 | 11 | 13 | 13 | 10 | 6 | 1 | 0 |
| Keskmine | 21.7 | 11.9 | 6.9 | 4.3 | 0.2 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | |
| SD | 10.57 | 5.61 | 3.25 | 2.44 | 0.25 | 0.00 | 0.00 | | |

FIG 3C

Seerumi natalisumaabi kontsentratsioonide kokkuvõte 6,0 mg/kg natalisumaabi korral

Kuu 0

| Patsient | infusioonieelne | 60 min. | 2 tundi | 24 tundi | Nädal 1 | Nädal 2 | Nädal 3 | Kuu 1 |
|----------|-----------------|---------|-------------|-------------|------------|------------|------------|------------|
| 01 | <0.25 | 104.8 | 155.3 µg/ml | 110.0 µg/ml | 36.3 µg/ml | 16.8 µg/ml | 11.4 µg/ml | 11.0 µg/ml |
| 02 | <0.13 | 102.8 | 135.0 | 81.8 | 37.5 | 18.7 | 11.0 | 3.9 |
| 03 | <0.13 | 121.1 | 96.3 | 68.4 | 22.9 | 19.9 | 11.4 | 6.6 |
| 04 | <0.13 | 136.0 | 141.2 | 86.6 | 26.0 | 20.9 | 13.7 | 9.8 |
| 05 | <0.13 | 163.8 | 138.6 | 84.4 | 29.4 | 17.5 | 14.0 | 9.6 |
| 06 | <0.13 | 145.7 | 173.7 | 94.8 | 29.3 | 16.5 | 14.0 | 9.7 |
| 07 | <0.25 | 173.5 | 164.0 | 110.0 | 33.9 | ND | ND | ND |
| 08 | <0.13 | 135.8 | 143.0 | 105.8 | 20.9 | 17.6 | 15.0 | 10.9 |
| 09 | <0.13 | 97.3 | 127.9 | 66.8 | 27.0 | 8.3 | 7.8 | 4.8 |
| 10 | <0.13 | 149.2 | 111.2 | 103.2 | 37.0 | 21.4 | 11.9 | 4.8 |
| 11 | <0.25 | 111.6 | 142.5 | 88.9 | 20.8 | 20.7 | 9.7 | 8.6 |
| 12 | <0.13 | 147.6 | 135.0 | 95.5 | 43.9 | 28.0 | 19.4 | 9.9 |
| 13 | <0.25 | 183.9 | 168.6 | 113.2 | 52.0 | 31.7 | 20.9 | 12.1 |
| 14 | <0.13 | 140.2 | 129.2 | 109.9 | 36.9 | 21.0 | 12.2 | 7.9 |

Kuu 0

| | infusioonieelne | 60 min. | 2 tundi | 24 tundi | Nädal 1 | Nädal 2 | Nädal 3 | Kuu 1 |
|----------|-----------------|---------|---------|----------|---------|---------|---------|-------|
| N | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 13 | 13 | 13 |
| Keskmine | 0.0 | 136.7 | 140.1 | 94.2 | 32.4 | 19.9 | 13.3 | 8.4 |
| SD | 0.00 | 26.72 | 21.18 | 15.38 | 8.97 | 5.61 | 3.63 | 2.64 |

FIG 4A

Seerumi natalisumaabi kontsentratsioonide kokkuvõte 6,0 mg/kg natalisumaabi korral

Kuu 5

| Patsient | Kuu 2 | Kuu 3 | Kuu 4 | infusioonieelne | 60 min. | 2 tundi | 24 tundi |
|----------|------------|----------|-----------|-----------------|---------|---------|----------|
| 01 | 10.7 µg/ml | ND µg/ml | 2.4 µg/ml | ND | ND | ND | ND |
| 02 | 6.8 | 8.2 | 9.6 | 10.3 | ND | ND | ND |
| 03 | 8.6 | 9.9 | 10.5 | 7.8 | 92.6 | 97.5 | 85.9 |
| 04 | 11.8 | 16.4 | 17.1 | 15.8 | 200.1 | 161.1 | 135.6 |
| 05 | 9.3 | 11.6 | 16.9 | 19.5 | 190.4 | 168.3 | 104.4 |
| 06 | 11.7 | 14.5 | 16.8 | 18.2 | 171.3 | 153.0 | 112.7 |
| 07 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 08 | 14.6 | 12.9 | 14.2 | 18.4 | 145.2 | 172.5 | 99.2 |
| 09 | 8.5 | 8.4 | 12.0 | ND | 103.0 | 107.5 | 44.9 |
| 10 | 9.0 | 16.3 | 18.1 | 10.9 | 114.3 | 141.4 | 103.0 |
| 11 | 11.8 | 14.2 | 13.3 | 14.5 | 135.7 | 109.4 | 93.8 |
| 12 | 11.7 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 13 | 1.6 | <0.13 | 1.9 | 7.5 | 187.0 | 141.8 | 124.6 |
| 14 | 11.2 | 12.6 | 12.8 | 11.8 | 152.4 | 124.0 | 114.6 |

Kuu 5

| SRN | Kuu 2 | Kuu 3 | Kuu 4 | infusioonieelne | 60 min. | 2 tundi | 24 tundi |
|----------|-------|-------|-------|-----------------|---------|---------|----------|
| N | 13 | 11 | 12 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Keskmine | 9.8 | 11.4 | 12.1 | 13.5 | 149.2 | 137.7 | 101.9 |
| SD | 3.18 | 4.71 | 5.39 | 4.43 | 37.96 | 26.82 | 24.75 |

FIG 4B

Seerumi natalisumaabi kontsentratsioonide kokkuvõte 6,0 mg/kg natalisumaabi korral

| Patsient | Nädal 21 | Nädal 22 | Nädal 23 | Kuu 6 | Kuu 7 | Kuu 8 | Kuu 9 | Kuu 10 | Kuu 12 |
|----------|----------|----------|----------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|
| 01 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 02 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 03 | 43.2 | 17.2 | 15.5 | 10.1 | 1.3 | <0.13 | <0.13 | ND | ND |
| 04 | 59.1 | 38.6 | 25.1 | 19.3 | 3.4 | 0.2 | <0.13 | ND | ND |
| 05 | 46.0 | 29.3 | 21.3 | 24.8 | 6.5 | 0.3 | 0.2 | ND | ND |
| 06 | 78.9 | 42.9 | 25.1 | 17.4 | 2.9 | <0.13 | <0.13 | ND | ND |
| 07 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 08 | 50.1 | 26.0 | 24.7 | 21.2 | ND | 0.7 | <0.13 | <0.13 | ND |
| 09 | 32.2 | 30.2 | 16.6 | 9.3 | 1.1 | <0.13 | <0.13 | ND | ND |
| 10 | 50.7 | 34.3 | 17.0 | 13.1 | 2.1 | <0.13 | <0.13 | <0.13 | ND |
| 11 | 34.0 | 30.0 | 23.7 | 22.5 | 4.6 | ND | ND | ND | ND |
| 12 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 13 | 48.1 | 31.9 | 19.3 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 14 | 44.8 | 32.3 | 15.5 | 13.6 | 2.6 | ND | ND | ND | ND |
| N | 10 | 10 | 10 | 9 | 8 | 7 | 7 | 2 | 0 |
| Keskmine | 48.7 | 31.3 | 20.4 | 16.8 | 3.1 | 0.2 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| SD | 13.20 | 6.93 | 4.08 | 5.56 | 1.79 | 0.26 | 0.08 | 0.00 | 0.00 |

FIG 4C

SM uuringus säilitatud retseptori küllastumise tasemed

| Visiit | Proovivõtuaeg | Statistiline näitaja | 3.0 mg/kg Antegren | | 6.0 mg/kg Antegren | |
|---------|----------------------------|----------------------|---------------------|--------|---------------------|--------|
| | | | Platseebo (n=71) | (n=68) | Platseebo (n=71) | (n=74) |
| Kuu 0 | Infusioonieeline | N | 14 | 13 | 14 | 14 |
| | | keskmine | 9.82 | 8.06 | 7.56 | 7.56 |
| | | standardhälve | 5.331 | 2.192 | 3.135 | 3.135 |
| | | mediaan | 8.3 | 7.7 | 6.7 | 6.7 |
| | | miinimum | 4.7 | 5.9 | 3.1 | 3.1 |
| Kuu 0 | 2 tundi pärast infusiooni | maksimum | 24.9 | 14.4 | 13.3 | 13.3 |
| | | N | 14 | 14 | 14 | 14 |
| | | keskmine | 8.21 | 99.11 | 100.97 | 100.97 |
| | | standardhälve | 3.567 | 10.557 | 4.884 | 4.884 |
| | | mediaan | 7.5 | 102.4 | 102.1 | 102.1 |
| | | miinimum | 5.2 | 74.9 | 93.2 | 93.2 |
| | | maksimum | 18.6 | 110.8 | 110.7 | 110.7 |
| <hr/> | | | | | | |
| Visiit | Proovivõtuaeg | Statistiline näitaja | 3.0 mg/kg Antegren | | 6.0 mg/kg Antegren | |
| | | | Platseebo (n=71) | (n=68) | Platseebo (n=71) | (n=74) |
| Kuu 0 | 24 tundi pärast infusiooni | N | 12 | 12 | 13 | 13 |
| | | keskmine | 9.30 | 99.09 | 98.93 | 98.93 |
| | | standardhälve | 7.328 | 9.052 | 12.079 | 12.079 |
| | | mediaan | 6.7 | 99.9 | 97.4 | 97.4 |
| | | miinimum | 5.6 | 81.5 | 81.2 | 81.2 |
| Nädal 1 | | maksimum | 31.9 | 109.4 | 117.5 | 117.5 |
| | | N | 14 | 14 | 14 | 14 |
| | | keskmine | 7.92 | 93.41 | 99.61 | 99.61 |
| | | standardhälve | 2.579 | 5.656 | 12.011 | 12.011 |
| | | mediaan | 8.3 | 94.3 | 94.9 | 94.9 |
| | | miinimum | 3.5 | 82.8 | 83.5 | 83.5 |
| | | maksimum | 13.3 | 100.9 | 120.8 | 120.8 |

FIG 5A

SM uuringus säilitatud retseptori küllastumise tasemed

| Visiit | Proovivõtuaeg | Statistiline näitaja | Platseebo (n=71) | 3.0 mg/kg Antegren (n=68) | 6.0 mg/kg Antegren (n=74) |
|---------|---------------|----------------------|---------------------|------------------------------|------------------------------|
| Nädal 2 | | N | 12 | 14 | 13 |
| | | keskmine | 8.98 | 88.28 | 97.37 |
| | | standardhälve | 2.991 | 7.494 | 14.377 |
| | | mediaan | 8.4 | 88.0 | 97.9 |
| | | miinimum | 4.1 | 75.9 | 78.3 |
| | | maksimum | 13.4 | 101.4 | 131.7 |
| Nädal 3 | | N | 13 | 13 | 12 |
| | | keskmine | 8.17 | 80.99 | 92.79 |
| | | standardhälve | 2.242 | 19.150 | 9.767 |
| | | mediaan | 8.8 | 85.5 | 92.3 |
| | | miinimum | 4.9 | 24.5 | 74.7 |
| | | maksimum | 12.0 | 99.3 | 110.9 |
| <hr/> | | | | | |
| Kuu 1 | | N | 14 | 13 | 13 |
| | | keskmine | 8.87 | 82.48 | 85.58 |
| | | standardhälve | 3.808 | 11.272 | 8.491 |
| | | mediaan | 8.4 | 84.1 | 84.6 |
| | | miinimum | 3.1 | 56.1 | 68.6 |
| | | maksimum | 17.3 | 100.2 | 96.1 |
| Kuu 2 | | N | 12 | 14 | 13 |
| | | keskmine | 9.41 | 79.15 | 93.21 |
| | | standardhälve | 3.846 | 22.779 | 9.194 |
| | | mediaan | 9.4 | 87.1 | 94.0 |
| | | miinimum | 4.7 | 7.3 | 75.8 |
| | | maksimum | 19.5 | 96.6 | 104.2 |

FIG 5B

SM uuringus säilitatud retseptori küllastumise tasemed

| Visiit | Proovivõtuageg | Statistiline näitaja | Platseebo | | |
|--------|---------------------------|----------------------|--------------------|------------------------------|------------------------------|
| | | | (n=71) | 3.0 mg/kg Antegren (n=68) | 6.0 mg/kg Antegren (n=74) |
| Kuu 3 | | N | 12 | 14 | 12 |
| | | keskmine | 6.97 | 79.47 | 83.32 |
| | | standardhälve | 2.720 | 23.459 | 18.333 |
| | | mediaan | 6.5 | 81.6 | 88.9 |
| | | miinimum | 3.3 | 8.9 | 29.2 |
| Kuu 4 | | maksimum | 11.4 | 104.5 | 96.3 |
| | | N | 10 | 14 | 11 |
| | | keskmine | 8.38 | 77.81 | 95.51 |
| | | standardhälve | 3.400 | 25.375 | 15.794 |
| | | mediaan | 7.1 | 76.0 | 93.6 |
| | | miinimum | 4.9 | 7.9 | 78.3 |
| | | maksimum | 16.9 | 117.4 | 139.0 |
| | | | | | |
| | | | Platseebo | | |
| | | | (n=71) | | |
| | | | 3.0 mg/kg Antegren | | |
| | | | (n=68) | | |
| | | | 6.0 mg/kg Antegren | | |
| | | | (n=74) | | |
| Visiit | Proovivõtuageg | Statistiline näitaja | Platseebo | | |
| | | | (n=71) | 3.0 mg/kg Antegren (n=68) | 6.0 mg/kg Antegren (n=74) |
| Kuu 5 | Infusioonieelne | N | 9 | 13 | 11 |
| | | keskmine | 9.48 | 70.88 | 91.94 |
| | | standardhälve | 2.606 | 26.535 | 10.720 |
| | | mediaan | 9.1 | 75.1 | 94.8 |
| | | miinimum | 6.1 | 9.0 | 75.4 |
| Kuu 5 | 2 tundi pärast infusiooni | maksimum | 15.6 | 115.0 | 106.9 |
| | | N | 9 | 11 | 10 |
| | | keskmine | 11.03 | 92.09 | 99.19 |
| | | standardhälve | 6.203 | 8.267 | 10.200 |
| | | mediaan | 7.6 | 95.0 | 97.4 |
| | | miinimum | 4.9 | 79.7 | 82.5 |
| | | maksimum | 21.7 | 103.4 | 114.6 |
| | | | | | |

FIG 5C

SM uuringus säilitatud retseptori küllastumise tasemed

| Visiit | Proovivõtuage | Statistiline näitaja | Platseebo | | |
|----------|----------------------------|--|-----------|--------|--------|
| | | | (n=71) | (n=68) | |
| Kuu 5 | 24 tundi pärast infusiooni | N | 8 | 12 | 10 |
| | | keskmine | 7.50 | 92.04 | 89.08 |
| | | standardhälve | 2.660 | 15.256 | 32.364 |
| | | mediaan | 6.4 | 94.6 | 95.9 |
| | | miinimum | 4.7 | 49.5 | 4.8 |
| Nädal 21 | | maksimum | 12.8 | 106.4 | 123.2 |
| | | N | 8 | 12 | 11 |
| | | keskmine | 8.06 | 80.25 | 92.27 |
| | | standardhälve | 2.217 | 24.078 | 11.557 |
| | | mediaan | 8.2 | 86.2 | 88.9 |
| Nädal 22 | | miinimum | 4.3 | 5.1 | 77.3 |
| | | maksimum | 11.7 | 94.6 | 112.9 |
| | | Platseebo 3.0 mg/kg Antegren 6.0 mg/kg Antegren (n=74) | | | |
| | | N | 7 | 12 | 10 |
| | | keskmine | 8.67 | 84.98 | 90.44 |
| Nädal 23 | | standardhälve | 2.471 | 25.744 | 18.174 |
| | | mediaan | 8.7 | 90.5 | 81.6 |
| | | miinimum | 5.1 | 6.2 | 73.5 |
| | | maksimum | 12.0 | 101.7 | 127.8 |
| | | N | 7 | 10 | 10 |
| Nädal 23 | | keskmine | 9.16 | 82.89 | 97.24 |
| | | standardhälve | 2.950 | 27.649 | 23.374 |
| | | mediaan | 8.7 | 90.2 | 90.9 |
| | | miinimum | 4.6 | 6.1 | 78.8 |
| | | maksimum | 14.0 | 100.5 | 154.8 |

FIG 5D

SM uuringus säilitatud retseptori küllastumise tasemed

| Visiit | Proovivõtuaeg | Statistiline näitaja | | |
|--------|---------------|----------------------|------------------------------|------------------------------|
| | | Platseebo (n=71) | 3.0 mg/kg Antegren (n=68) | 6.0 mg/kg Antegren (n=74) |
| Kuu 6 | N | 10 | 13 | 9 |
| | keskmine | 8.65 | 67.32 | 80.59 |
| | standardhälve | 3.574 | 29.838 | 27.738 |
| | mediaan | 8.2 | 80.2 | 85.4 |
| | miinimum | 4.4 | 6.4 | 10.0 |
| Kuu 7 | maksimum | 16.7 | 102.5 | 106.2 |
| | N | 10 | 12 | 8 |
| | keskmine | 7.69 | 42.10 | 80.46 |
| | standardhälve | 1.281 | 24.011 | 27.664 |
| | mediaan | 7.7 | 41.1 | 67.2 |
| Kuu 8 | miinimum | 5.1 | 4.7 | 62.5 |
| | maksimum | 10.4 | 88.0 | 145.2 |
| | N | 10 | 13 | 8 |
| | keskmine | 7.60 | 14.09 | 34.16 |
| | standardhälve | 1.726 | 10.214 | 21.619 |
| Kuu 9 | mediaan | 6.9 | 12.1 | 29.6 |
| | miinimum | 6.0 | 6.2 | 11.8 |
| | maksimum | 10.7 | 45.0 | 59.6 |
| | N | 5 | 7 | 7 |
| | keskmine | 9.52 | 5.88 | 9.45 |
| Kuu 8 | standardhälve | 2.701 | 2.246 | 4.644 |
| | mediaan | 9.0 | 5.6 | 7.7 |
| | miinimum | 6.3 | 3.7 | 5.5 |
| | maksimum | 13.5 | 10.4 | 18.0 |
| | N | 10 | 13 | 8 |

FIG 5E

SM uuringus säilitatud retseptori küllastumise tasemed

| Visiit | Proovivõtuaeg | Statistiline näitaja | Platseebo (n=71) | 3.0 mg/kg Antegren (n=68) | 6.0 mg/kg Antegren (n=74) |
|---------------------------|---------------|----------------------|---------------------|------------------------------|------------------------------|
| Kuu 10 | | N | 2 | 3 | 4 |
| | | keskmine | 7.78 | 8.65 | 9.17 |
| | | standardhälve | 2.029 | 0.635 | 1.655 |
| | | mediaan | 7.8 | 8.6 | 9.3 |
| | | miinimum | 6.3 | 8.0 | 7.1 |
| | | maksimum | 9.2 | 9.3 | 11.0 |
| Kuu 12 | | N | 1 | 1 | 1 |
| | | keskmine | 8.80 | 6.04 | 6.61 |
| | | standardhälve | | | |
| | | mediaan | 8.8 | 6.0 | 6.6 |
| | | miinimum | 8.8 | 6.0 | 6.6 |
| | | maksimum | 8.8 | 6.0 | 6.6 |
| varsti pärast katse lõppu | | N | 0 | 1 | 1 |
| | | keskmine | | 94.51 | 32.29 |
| | | standardhälve | | | |
| | | mediaan | | 94.5 | 32.3 |
| | | miinimum | | 94.5 | 32.3 |
| | | maksimum | | 94.5 | 32.3 |

FIG 5F