

B

TRADUZIONE DEL TESTO INTEGRALE DEL BREVETTO EUROPEO

N. 3482768 DAL TITOLO:

“METODI E KIT PER PREVENIRE IL RISCHIO DI REAZIONE DA
INFUSIONE E LA PERDITA DI RISPOSTA MEDIATA DA ANTICORPI
5 MONITORANDO L'ACIDO URICO SIERICO DURANTE TERAPIA CON
URICASI PEGILATA”

*** **

DESCRIZIONE

CAMPO DELL'INVENZIONE

10 Questa invenzione riguarda uricasi PEGilata da usare in un
metodo di terapia.

STATO DELL'ARTE DELL'INVENZIONE

La gotta è un disturbo cronico del metabolismo dell'urato che
provoca la deposizione di cristalli di urato monosodico nelle articolazioni
15 e nei tessuti molli, con infiammazione associata e, infine, in alcuni
pazienti, artropatia cronica distruttiva. La gotta è la forma più diffusa di
artrite negli uomini e sta aumentando l'incidenza e la prevalenza tra le
persone anziane di entrambi i generi. La gotta cronica refrattaria alla
terapia convenzionale (GRT) è un esito raro ma grave di gotta
20 progressiva che deriva da una dimostrata intolleranza o refrattarietà alla
terapia disponibile per prevenire la deposizione di cristalli di urato
riducendo e mantenendo i livelli di urato sierico in un intervallo
subsaturante.

Un elevato tasso di urato sierico è un marcatore biochimico
25 distintivo della gotta. Livelli di acido urico plasmatico (PUA) o acido urico

sierico (SUA) persistentemente elevati determinano la deposizione di acido urico nelle articolazioni e nei tessuti molli. All'aumentare del carico corporeo totale dell'acido urico compaiono segni e sintomi di gotta, inclusa artrite, caratterizzati da ricorrenti episodi dolorosi di gotta, sviluppo di tofi e deformità articolari con conseguente dolore/infiemmazione cronici e conseguente perdita della funzionalità fisica.

L'endpoint di efficacia della terapia con uricasi PEGilata di successo è la normalizzazione dei livelli di acido urico sierico nei pazienti con CGR mantenendo al contempo un basso profilo di immunogenicità e un basso rischio di reazioni da infusione associate a iniezioni endovenose di uricasi PEGilata.

Tuttavia, dato che la perdita dell'effetto di uricasi PEGilata e le reazioni da infusione possono accompagnare la somministrazione di uricasi PEGilata, i medici devono essere informati in merito al momento opportuno in cui interrompere la terapia. Vi è quindi la necessità nell'arte di nuovi metodi per guidare i medici su quando interrompere la terapia con uricasi PEGilata, al fine di ridurre al minimo le reazioni da infusione e i rischi di sicurezza a esse associati. Hamburger et al. (Arthritis Advisory Committee Meeting, Pegliotase (KRYSTEXXA™) IV Infusion, June 16, 2009) hanno divulgato studi clinici per un'uricasi PEGilata somministrata per via endovenosa a pazienti con gotta. Affermano che la misurazione di SUA è un "indicatore efficace" degli anticorpi anti-pegliotasi.

25 **SOMMARIO DELL'INVENZIONE**

La presente invenzione fornisce uricasi PEGilata da usare nei metodi per prevenire reazioni da infusione durante una terapia con uricasi PEGilata in un paziente affetto da gotta, in cui il livello di acido urico sierico del paziente è stato normalizzato tra 3,5 mg/dL e 6,0 mg/dL
5 mediante uricasi PEGilata, il metodo comprendendo i passaggi di a) somministrare uricasi PEGilata a detto paziente; b) ottenere un campione biologico da detto paziente;

c) determinare i livelli di acido urico in detto campione biologico; e d) indicare che la terapia può essere interrotta per prevenire reazioni
10 da infusione quando detto livello di acido urico è superiore a 6 mg/dL. In un aspetto dell'invenzione, la terapia con uricasi PEGilata può essere interrotta quando detto livello di acido urico è superiore a circa 7 mg/dL.

In un altro aspetto dell'invenzione, l'uricasi PEGilata viene somministrata a un dosaggio di circa 8 mg ogni 2 settimane. In una forma
15 di realizzazione, l'uricasi PEGilata viene somministrata a un dosaggio di circa 8 mg ogni 3 settimane. In una forma di realizzazione, l'uricasi PEGilata viene somministrata a un dosaggio di circa 8 mg ogni 4 settimane. In una forma di realizzazione, l'uricasi PEGilata viene somministrata a un dosaggio di circa 4 mg ogni 2 settimane. In una forma
20 di realizzazione, l'uricasi PEGilata viene somministrata a un dosaggio di circa 12 mg ogni 4 settimane.

La presente invenzione fornisce uricasi PEGilata per l'uso in un metodo in cui il livello di acido urico sierico di un paziente è stato normalizzato tra 3,5 mg/dL e 6,0 mg/dL mediante uricasi PEGilata. La
25 presente invenzione può quindi usare un campione biologico selezionato

B

dal gruppo costituito da sangue, siero e plasma. In una forma di realizzazione, detti livelli di acido urico in detto campione biologico sono determinati almeno 2 ore dopo la somministrazione come definito nel passaggio (a). In un'altra forma di realizzazione, detti livelli di acido urico in detto campione biologico sono determinati almeno 6 ore dopo la somministrazione come definito nel passaggio (a). In ancora un'altra forma di realizzazione, detti livelli di acido urico in detto campione biologico sono determinati almeno 24 ore dopo la somministrazione come definito nel passaggio (a). In ancora un'altra forma di realizzazione, detti livelli di acido urico in detto campione biologico sono determinati 2 settimane dopo la somministrazione come definito nel passaggio (a). E in ancora un'altra forma di realizzazione, detti livelli di acido urico in detto campione biologico sono determinati 4 settimane dopo la somministrazione come definito nel passaggio (a).

La presente invenzione riguarda uricasi PEGilata da usare in un metodo per trattare pazienti affetti da gotta. In una forma di realizzazione, detta gotta è refrattaria. In un'altra forma di realizzazione, detta gotta è cronica o tofacea. In ancora un'altra forma di realizzazione, l'uricasi PEGilata viene somministrata per endovena.

In un altro aspetto di realizzazione, i livelli di acido urico in detto campione biologico sono determinati almeno 3 giorni dopo la somministrazione come definito nel passaggio (a). In un altro aspetto di realizzazione, i livelli di acido urico in detto campione biologico sono determinati almeno 1 settimana dopo la somministrazione come definito nel passaggio (a). In un altro aspetto di realizzazione, i livelli di acido

B

urico in detto campione biologico sono determinati almeno 2 settimane dopo la somministrazione come definito nel passaggio (a). In un altro aspetto di realizzazione, i livelli di acido urico in detto campione biologico sono determinati almeno 4 settimane dopo la somministrazione come
5 definito nel passaggio (a).

In una forma di realizzazione, la presente invenzione prevede se un paziente trattato con uricasi PEGilata svilupperà clearance di uricasi PEGilata mediata da anticorpi senza misurare il titolo di uricasi PEGilata e anticorpi anti-PEG, in cui il livello di acido urico sierico del paziente è
10 stato normalizzato tra 3,5 mg/dL e 6,0 mg/dL mediante uricasi PEGilata, in cui il metodo comprende i passaggi di a) somministrare uricasi PEGilata a detto paziente; b) ottenere un campione biologico da detto paziente; c) determinare i livelli di acido urico in detto campione biologico;
e

15 d) indicare che il livello di acido urico è associato a una minore probabilità di clearance di uricasi PEGilata mediata da anticorpi quando detto livello è mantenuto a meno di circa 4 mg/dL o indicare che detto livello di acido urico determinato è associato a una maggiore probabilità di clearance di uricasi PEGilata mediata da anticorpi in un punto
20 temporale in cui detto livello di acido urico è misurato ad almeno 4 mg/dL circa; o (e) il livello di acido urico è associato a una minore probabilità di clearance di uricasi PEGilata mediata da anticorpi quando detto livello viene mantenuto a meno di 5 mg/dL circa o indicare che detto livello di acido urico determinato è associato a una maggiore probabilità di
25 clearance di uricasi PEGilata mediata da anticorpi in un punto temporale

in cui detto livello di acido urico viene misurato almeno a 5 mg/dL circa;
oppure (f) il livello di acido urico è associato a una minore probabilità di
clearance di uricasi PEGilata mediata da anticorpi quando detto livello
viene mantenuto a meno di 6 mg/dL circa o indicare che detto livello di
5 acido urico determinato è associato a una maggiore probabilità di
clearance di uricasi PEGilata mediata da anticorpi in un punto temporale
in cui detto livello di acido urico viene misurato ad almeno 6 mg/dL circa.

In un altro aspetto di realizzazione, i livelli di acido urico in detto
campione biologico sono determinati almeno 3 giorni dopo la
10 somministrazione come definito nel passaggio (a). In un altro aspetto di
realizzazione, i livelli di acido urico in detto campione biologico sono
determinati almeno 1 settimana dopo la somministrazione come definito
nel passaggio (a). In un altro aspetto di realizzazione, i livelli di acido
urico in detto campione biologico sono determinati almeno 2 settimane
15 dopo la somministrazione come definito nel passaggio (a). In un altro
aspetto di realizzazione, i livelli di acido urico in detto campione biologico
sono determinati almeno 4 settimane dopo la somministrazione come
definito nel passaggio (a).

BREVE DESCRIZIONE DEI DISEGNI

20 Figura 1 mostra il titolo medio di anticorpi anti-pegloticasi in
pazienti che ricevono pegloticasi ogni 2 settimane.

Figura 2 mostra il profilo tempo-concentrazione per pegloticasi
con somministrazione ogni 2 settimane.

Figura 3 mostra la relazione tra titolo di anticorpi e pegloticasi
25 AUC con somministrazione ogni 2 settimane.

Figura 4 mostra il valore SUA alla prima perdita rilevata di risposta a pegloticasi ricevuta ogni 2 settimane.

Figura 5 mostra il titolo di anticorpi anti-uricasi pegilata in un momento di perdita di risposta a pegloticasi ricevuta ogni 2 settimane.

5 Figura 6 mostra il profilo tempo-concentrazione per pegloticasi con somministrazione ogni 4 settimane.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

Definizioni

Secondo questa descrizione dettagliata, si applicano le seguenti
10 abbreviazioni e definizioni. Si noti che, secondo l'uso fattone nel presente documento, le forme singolari "un/una" "un'/uno" e "il/lo/l'/la" includono riferimenti plurali salvo il contesto indichi chiaramente diversamente.

È stato sorprendentemente scoperto che il monitoraggio dei livelli di SUA prevede la perdita di risposta mediata da anticorpi e la
15 maggior parte delle reazioni da infusione durante una terapia con uricasi PEGilata. È stato scoperto che la maggior parte delle reazioni da infusione si sono verificate dopo la perdita di risposta a SUA. Pertanto, il monitoraggio di routine di SUA può essere usato per identificare in modo prospettico i pazienti che ricevono uricasi PEGilata che non traggono più
20 beneficio dal trattamento e che sono a maggior rischio di reazioni da infusione.

Il termine "efficacia terapeutica" come usato nel presente documento si riferisce all'efficacia di un particolare regime di trattamento. Nello specifico, l'efficacia terapeutica è definita raggiungendo livelli di
25 urato sierico inferiori o pari a circa 6 mg/dL. Ciò include un equilibrio di

efficacia, tossicità (ad esempio, effetti collaterali e tolleranza del paziente di una formulazione o unità di dosaggio), compliance del paziente e simili.

I termini "trattare", "trattamento" e simili vengono usati nel presente documento per fare riferimento all'ottenimento di un effetto farmacologico e fisiologico desiderato. L'effetto può essere profilattico in termini di prevenzione o prevenzione parziale di una malattia o relativo sintomo o condizione e/o può essere terapeutico in termini di cura parziale o completa di una malattia, condizione, sintomo o effetto avverso attribuito alla malattia. Il termine "trattamento", come usato nel presente documento, copre qualsiasi trattamento di una malattia in un mammifero, come un essere umano, e include: (a) prevenire l'insorgenza della malattia in un paziente che può essere predisposto alla malattia ma a cui non è stato ancora diagnosticato di esserne affetto, vale a dire far sì che i sintomi clinici della malattia non si sviluppino in un paziente che può essere predisposto alla malattia ma che non presenta o mostra ancora sintomi della malattia; (b) inibire la malattia, vale a dire arrestare o ridurre lo sviluppo della malattia o dei suoi sintomi clinici; e (c) alleviare la malattia, vale a dire causare regressione della malattia e/o dei suoi sintomi o condizioni. È contemplato trattare un paziente affetto da malattia correlata a infiammazione patologica. Sono anche contemplati prevenire, inibire o alleviare effetti avversi attribuiti a infiammazione patologica per lunghi periodi di tempo e/o tali causati dalle risposte fisiologiche a un'infiammazione inappropriata presente in un sistema biologico per lunghi periodi di tempo.

Come usato nel presente documento, il termine "immunogenicità" si riferisce all'induzione di una risposta immunitaria mediante una preparazione iniettata di uricasi modificata con PEG o non modificata (l'antigene), mentre "antigenicità" si riferisce alla reazione di un antigene con anticorpi preesistenti. Collettivamente, antigenicità e immunogenicità sono indicate come "immunoreattività". In studi precedenti di uricasi PEGilata, l'immunoreattività viene valutata mediante una varietà di metodi, inclusi: 1) la reazione in vitro di uricasi PEGilata con anticorpi preformati; 2) misurazioni della sintesi di anticorpi indotta; e 3) tassi di clearance accelerata di uricasi PEGilata dopo iniezioni ripetute.

Secondo l'uso fattone nel presente documento, il termine "reazione da infusione" è un effetto indesiderato e imprevisto di un'uricasi PEGilata che si verifica entro 2 ore dall'infusione di uricasi PEGilata o placebo che non può essere ragionevolmente attribuita a un'altra causa. In particolare, si verifica una reazione avversa al farmaco a dosi usate per profilassi, diagnosi o terapia.

I coniugati di uricasi PEGilata utilizzati con la presente invenzione sono utili per abbassare i livelli di acido urico nei liquidi corporei e nei tessuti dei mammiferi, preferibilmente esseri umani, e possono quindi essere usati per il trattamento di livelli elevati di acido urico associati a condizioni che includono gotta, tofi, insufficienza renale, trapianto di organi e malattia maligna. Coniugati di uricasi PEGilata possono essere iniettati in un mammifero avente livelli eccessivi di acido

B

urico mediante una qualsiasi di numerose vie, inclusa la via endovenosa, sottocutanea, intradermica, intramuscolare e intraperitoneale.

In una forma di realizzazione, uricasi PEGilata viene somministrata in un eccipiente o diluente farmaceuticamente accettabile
5 a 8 mg ogni due settimane. In un'altra forma di realizzazione, uricasi PEGilata può essere somministrata a 8 mg ogni quattro settimane. In ancora un'altra forma di realizzazione, uricasi PEGilata può essere somministrata a 8 mg ogni tre settimane.

In un altro aspetto dell'invenzione, uricasi PEGilata può essere
10 somministrata a 4 mg ogni due settimane. In ancora un altro aspetto dell'invenzione, uricasi PEGilata può essere somministrata a 12 mg ogni quattro settimane.

Formulazioni farmaceutiche contenenti uricasi PEGilata possono essere preparate mediante tecniche convenzionali, per esempio come
15 descritto in Gennaro, AR (ed.) (1990) Remington's Pharmaceutical Sciences, 18a edizione Easton, Pa.: Mack Publishing Co. Eccipienti idonei per la preparazione di soluzioni iniettabili includono, per esempio, tampone fosfato salino, soluzione di Ringer lattato, acqua, polioli e glicerolo. Composizioni farmaceutiche per iniezione parenterale
20 comprendono liquidi, dispersioni, sospensioni o emulsioni acquosi o non acquosi sterili farmaceuticamente accettabili, nonché polveri sterili per la ricostituzione in soluzioni o dispersioni iniettabili sterili appena prima dell'uso. Queste formulazioni possono contenere componenti aggiuntivi, come, per esempio, conservanti, solubilizzanti, stabilizzanti, agenti
25 umettanti, emulsionanti, tamponi, antiossidanti e diluenti.

Uricasi PEGilata può anche essere fornita come composizioni a rilascio controllato per l'impianto in un individuo al fine di controllare in modo continuo livelli elevati di acido urico nei liquidi corporei. Per esempio acido polilattico, acido poliglicolico, collagene rigenerato, poli-
5 L-lisina, alginato di sodio, gomma gellano, chitosano, agarosio, liposomi multilamellari e molte altre formulazioni depot convenzionali comprendono materiali bioerodibili o biodegradabili che possono essere formulati con composizioni biologicamente attive. Questi materiali, quando impiantati o iniettati, si scompongono gradualmente e rilasciano
10 il materiale attivo nel tessuto circostante. Per esempio, un metodo per incapsulare uricasi PEGilata comprende il metodo divulgato nel brevetto U.S. n. 5.653.974. L'uso di formulazioni bioerodibili, biodegradabili e di altri depot è espressamente contemplato nella presente invenzione. Anche l'uso di pompe per infusione e sistemi di intrappolamento a
15 matrice per l'erogazione di uricasi PEGilata rientra nella portata della presente invenzione. Uricasi PEGilata può anche essere vantaggiosamente racchiusa in micelle o liposomi. La tecnologia di incapsulamento liposomiale è ben nota nell'arte. Si veda, ad esempio, Lasic, D, et al., (a cura di) (1995) Stealth Liposomes. Boca Raton, Fla.:
20 CRC Press.

L'uricasi usata in uricasi PEGilata può comprendere una sequenza amminoacidica di uricasi di mammifero troncata in corrispondenza del terminale ammino o del terminale carbossi o di entrambi i terminali ammino e carbossi di circa 1-13 amminoacidi e può
25 inoltre comprendere una sostituzione amminoacidica in posizione 46

circa. L'uricasi troncata può inoltre comprendere un amminoacido sul terminale ammino, in cui l'amminoacido sul terminale ammino è alanina, glicina, prolina, serina o treonina, come descritto in PCT/US2006/013660 e nella domanda provvisoria U.S. con n. ser. 60/670.573.

5 Lo studio di fase 3 è stato completato come indicato negli esempi. In un aspetto dell'invenzione, la normalizzazione dell'acido urico di almeno 3,5 mg/dL circa è stata selezionata come misura di esito primario per riflettere l'effetto farmacodinamico di uricasi PEGilata. In un altro aspetto dell'invenzione, la normalizzazione dell'acido urico di
10 almeno 4,0 mg/dL circa è stata selezionata come misura di esito primario per riflettere l'effetto farmacodinamico di uricasi PEGilata. In ancora un altro aspetto dell'invenzione, la normalizzazione dell'acido urico di almeno 5,0 mg/dL circa è stata selezionata come misura di esito primario per riflettere l'effetto farmacodinamico di uricasi PEGilata. In ancora un
15 altro aspetto dell'invenzione, la normalizzazione dell'acido urico di almeno 6,0 mg/dL circa è stata selezionata come misura di esito primario per riflettere l'effetto farmacodinamico di uricasi PEGilata.

È noto che livelli di acido urico plasmatico (PUA) o acido urico sierico (SUA) persistentemente elevati determinano la deposizione di
20 acido urico nelle articolazioni e nei tessuti molli. All'aumentare del carico corporeo totale dell'acido urico compaiono segni e sintomi di gotta, inclusa artrite, caratterizzati da ricorrenti episodi dolorosi di gotta, sviluppo di tofi e deformità articolari con conseguente dolore/infiammazione cronici e conseguente perdita della funzionalità
25 fisica.

Uricasi PEGilata da 8 mg ogni 2 sett determina diminuzioni marcate dell'acido urico (PUA e SUA) che è associato alla risoluzione completa di tofi in alcuni pazienti e numeri inferiori di articolazioni dolenti. Il trattamento è anche associato a una diminuzione dell'incidenza e della
5 frequenza di episodi di gotta dopo 3 mesi di terapia rispetto a placebo, con continue riduzioni dell'incidenza e della frequenza di episodi con somministrazione a lungo termine, fino ad almeno 18 mesi. Questi benefici si verificano in pazienti con malattia cronica e spesso grave che non hanno altra terapia attualmente disponibile. I responder persistenti
10 sono quei pazienti che mantengono valori di SUA abbassati in risposta a infusioni di uricasi PEGilata ripetute. Il mantenimento di valori di SUA abbassati è associato a risposta di anticorpi anti-uricasi PEGilata assente o bassa (titoli <2430).

La relazione tra valori misurati di acido urico plasmatico (PUA) e
15 acido urico sierico (SUA) è stata valutata da campioni seriali di tutti i pazienti in studi di fase 3. La logica dietro questa valutazione riguardava l'uso di PUA come misura per l'endpoint primario per tutti gli studi su uricasi PEGilata mentre SUA è usato nella pratica clinica. La manipolazione e la lavorazione dei campioni per la determinazione di
20 PUA sono molto più coinvolte, e questa lavorazione è stata eseguita a bassa temperatura ed è stato utilizzato acido tricloroacetico per inattivare e precipitare uricasi PEGilata in modo che il farmaco non continuasse a ossidare acido urico. Tuttavia, i risultati sperimentali mostrano inequivocabilmente una stretta correlazione sia tra i valori di acido urico
25 in tutti i punti temporali sia indipendentemente dai valori di acido urico.

Una reazione da infusione è stata definita come qualsiasi evento avverso verificatosi durante o entro 2 ore dall'infusione di uricasi PEGilata o placebo che non può essere ragionevolmente attribuita a un'altra causa. Sebbene esistesse un trattamento profilattico per reazione da infusione specificata nel protocollo, si sono verificate
5 reazioni da infusione nel 26% dei pazienti trattati con uricasi PEGilata ogni 2 settimana e nel 40% con uricasi PEGilata sett ogni 4 settimane.

Sono stati osservati anticorpi anti-uricasi PEGilata in circa il 90% dei pazienti trattati con uricasi PEGilata. Anticorpi a titoli superiori
10 (>1:2430) erano associati a una maggiore clearance di uricasi PEGilata e alla perdita di attività di uricasi PEGilata, ma spesso non venivano rilevati titoli elevati fino a qualche tempo dopo l'aumento dei livelli di acido urico, a volte in ritardo di diverse settimane dopo la perdita della risposta dell'uricasi PEGilata. I pazienti che inizialmente hanno risposto a uricasi
15 PEGilata e che hanno perso la risposta in punti temporali successivi sono stati indicati come responder transitori, contrariamente ai pazienti che hanno mantenuto attività bassa di uricasi PEGilata durante tutto lo studio e sono stati definiti responder persistenti. L'aumento di PUA precede l'evidenza di titoli superiori di anticorpi.

I pazienti che hanno sviluppato titoli anticorpali elevati (ma non
20 titoli inferiori) avevano un'elevata probabilità di perdita di risposta di PUA. L'evidenza di una risposta transitoria era chiara in tutti i pazienti entro il mese 4 dopo l'inizio della terapia. Gli effetti clinici dell'immunogenicità sono facilmente rilevati mediante monitoraggio regolare dei livelli di SUA
25 durante i primi mesi di terapia.

Sebbene quei pazienti che hanno sviluppato anticorpi con titolo più elevato avessero una maggiore incidenza di reazioni da infusione, non vi era una chiara relazione tra titolo anticorpale e gravità delle reazioni da infusione.

5 I risultati nel presente documento indicano lo sviluppo di anticorpi anti-uricasi PEGilata ad alto titolo e il titolo anticorpale degli anti-PEG spiega la perdita della risposta SUA/PUA. Nei pazienti che infine sviluppano titoli elevati di anticorpi contro uricasi PEGilata vi è un rischio più elevato di reazioni da infusione. È importante sottolineare che la
10 maggior parte delle reazioni da infusione si verifica dopo la perdita della risposta SUA/PUA e, di conseguenza, un attento monitoraggio di SUA può evitare un dosaggio non necessario e prevenire anche la maggior parte delle reazioni da infusione. La perdita di effetto nella maggior parte dei responder transitori si verifica entro i primi 4 mesi, quindi è
15 fondamentale monitorare l'acido urico sierico durante quel periodo di tempo. Infine, la perdita di effetto dell'uricasi PEGilata può verificarsi frequentemente prima dell'aumento del titolo anticorpale anti-uricasi PEGilata, cosicché non vi è correlazione tra titolo anticorpale anti-uricasi PEGilata, o la presenza di qualsiasi titolo anticorpale anti-PEG, prima o
20 al momento della perdita di una risposta SUA/PUA. La mancanza di associazione tra titolo anticorpale e la risposta SUA/PUA conferma l'inefficacia del monitoraggio dei titoli anticorpali durante la terapia con uricasi PEGilata di pazienti con gotta con trattamento fallito.

Esempio 1: profili di immunogenicità e reazione da infusione di somministrazione endovenosa di pegloticasi a 8 mg ogni 2 settimane

Materiale, metodi e disegno dello studio clinico.

5 **Farmaco sperimentale**

Pegloticasi, una uricasi PEGilata usata in questo esempio, è costituita da una uricasi di mammifero ricombinante (principalmente suina, con sequenza C-terminale da uricasi di babbuino), coniugata con molteplici filamenti di monometossi PEG di peso molecolare medio 10 kDa (10 volte mPEG) per subunità di enzima tetramerico (Kelly SJ, et al. J Am Soc Nephrol 2001, 12:1001-1009; and Ganson NJ, et al. Arthritis Res Ther 2005, 8(1):R12).

Disegno dello studio di fase III

Pazienti:

15 Studi multicentrici (45 centri), replicati, in doppio cieco, controllati con placebo, sono stati condotti su pazienti con gotta sintomatica.

Tutti i pazienti hanno ricevuto un'infusione endovenosa (e.v.) (pegloticasi o placebo) ogni 2 settimane. I gruppi di trattamento erano costituiti da placebo (N=43), pegloticasi 8 mg e.v. ogni 2 settimane (ogni 20 2 sett) (N=84).

Tutti i pazienti hanno riportato un'anamnesi in cui era controindicata terapia con allopurinolo (ad esempio ipersensibilità, intolleranza o tossicità nell'anamnesi) o non era stata efficace, definita come incapacità di normalizzare SUA con trattamento di 2:3 mesi con 25 allopurinolo alla dose massima etichettata (800 mg/giorno) o a una dose

B

inferiore medicalmente appropriata basata sulla tossicità o sulla comorbilità dose-limitante. I principali criteri di esclusione all'ingresso includevano: angina instabile, aritmia incontrollata, insufficienza cardiaca congestizia non compensata, ipertensione non controllata (superiore a
5 150/95 mmHg), dialisi, ricevente di trapianto di organo, gravidanza e altro.

Per questi esperimenti, tutti i pazienti hanno interrotto tutte le terapie di abbassamento degli accoppiamenti 2: una settimana prima della randomizzazione, e si sono astenuti dall'usare tali agenti durante
10 tutto lo studio.

Tutti i pazienti hanno ricevuto profilassi per le reazioni da infusione (IR): fexofenadina per via orale (60 mg la sera prima e subito prima dell'infusione), acetaminofene (1000 mg) e idrocortisone IV (200 mg) prima di ciascuna infusione. Il medicinale in studio è stato
15 somministrato in 250 mL di soluzione salina in un tempo di infusione totale da 2 a 4 ore.

Immunogenicità

I saggi ELISA qualitativi e quantitativi usati per l'analisi del campione di studio sono stati convalidati secondo le buone pratiche di
20 laboratorio seguendo una guida accettata per il saggio immunologico (Mire-Sluis et al). Campioni per la determinazione di anticorpi usando saggi ELISA sono stati raccolti da tutti i pazienti al basale e alle settimane 3, 5, 9, 13, 17, 21 e 25 dopo l'inizio del trattamento con pegloticasi o placebo.

Rilevamento dell'anticorpo anti-pegloticasi.

Per la determinazione degli anticorpi anti-pegloticasi totali, i campioni di studio sono stati diluiti 1/30 nel tampone di saggio e saggiati usando pozzetti di piastra ELISA per microtitolazione rivestiti con pegloticasi o PEG. Un siero umano contenente anticorpi anti-pegloticasi è stato usato come controllo positivo per il rilevamento dell'anticorpo anti-pegloticasi totale nonché degli anticorpi IgM e IgG. La combinazione di IgG e IgM anti-umane di coniglio è stata usata come anticorpi secondari, mentre ciascuna individualmente è stata impiegata rispettivamente per il saggio di anticorpi anti-pegloticasi IgM e IgG (Sigma, St. Louis, Mo.)

Per questi esperimenti, per il rilevamento è stato usato anticorpo monoclonale murino coniugato con perossidasi di rafano contro IgG di coniglio. I pozzetti di piastra per microtitolazione rivestiti con IgG e IgM umane purificate sono serviti come controlli positivi di immunoglobulina per il legame di anticorpi secondari IgG anti-umane e IgM anti-umane.

L'interferenza al farmaco è stata determinata essere 300 µg/mL, che è molto superiore alla concentrazione di pegloticasi circolante misurata determinata nei campioni dello studio. Pertanto, non si prevede che pegloticasi circolante interferisca con la misurazione degli anticorpi anti-pegloticasi.

Proprietà degli anticorpi anti-pegloticasi.

Per la maggior parte dei campioni dei pazienti di fase 3, la risposta anticorpale implicava sia anticorpi IgM che IgG.

Rilevamento degli anticorpi anti-pegloticasi.

Per questi esperimenti, la metodologia di analisi di anti-pegloticasi è parallela al metodo generale per il saggio di anticorpi anti-

pegloticasi, con l'eccezione che è stato usato un controllo positivo surrogato per le analisi dei campioni di studio iniziale. Questo controllo positivo era costituito da una miscela di anticorpi monoclonali anti-PEG IgG1 e anti-PEG IgM murini, aggiunti a siero umano raggruppato e diluiti
5 1/10 in caseina bloccante in PBS. Un controllo positivo umano è stato introdotto nel saggio verso la fine dell'analisi del campione di studio. Per questi esperimenti, la sensibilità del saggio era di 500 ng/mL e si rifletteva anche nel basso tasso di rilevamento di falsi, pari a 8,6%.

Valutazioni di sicurezza, reazioni da infusione.

10 Per questi esperimenti, le reazioni da infusione erano definite come qualsiasi evento avverso verificatosi durante o entro 2 ore dall'infusione del farmaco dello studio in cieco che non poteva essere ragionevolmente attribuita ad altre cause. Reazioni da infusione si sono verificate durante l'infusione di pegloticasi e placebo. Segni e sintomi di
15 reazioni da infusione gravi includevano: dispnea, ipotensione, ipertensione, gonfiore, broncospasmo, dolore toracico, nausea, vomito, dolore e crampi addominali.

Come mostrato nella Figura 1, in tutti i punti temporali dopo il dosaggio, i responder persistenti nel gruppo ogni 2 sett avevano titoli anticorpali anti-pegloticasi medi inferiori rispetto ai responder transitori.
20 Ad esempio, è stato osservato che i pazienti con titolo anticorpale anti-pegloticasi <1:810 in qualsiasi momento durante lo studio sono stati associati a una risposta persistente. Perciò, il 68% dei responder persistenti nel gruppo ogni 2 sett aveva titoli che non hanno mai superato
25 un titolo di 1:810. D'altra parte, solo il 23% dei responder transitori del

gruppo ogni 2 sett aveva titoli <1:810. Pertanto, un titolo basso è stato associato a una risposta persistente.

Effetti di anticorpi anti-pegloticasi sulla farmacocinetica e farmacodinamica di pegloticasi. [000057]

5 Come mostrato nella Figura 2, la farmacocinetica di pegloticasi somministrata ogni 2 settimane è significativamente influenzata dalla presenza di anticorpi anti-pegloticasi. I responder persistenti avevano concentrazioni di picco di pegloticasi (C_{max}) più elevate in entrambi i gruppi rispetto a responder transitori. Come mostrato nella Figura 2, i
10 responder transitori nel gruppo con dose ogni 2 sett hanno mostrato concentrazioni di picco di pegloticasi diminuite dopo la settimana 3. Inoltre, entro la settimana 15, i responder transitori avevano concentrazioni di pegloticasi al di sotto del livello di rilevamento (0,6 µg/mL). I responder persistenti nel gruppo ogni 2 sett presentavano
15 concentrazioni di pegloticasi nell'intervallo 0,5-0,7 µg/mL.

 Come mostrato nella Figura 3, nei responder transitori, i titoli anticorpali anti-pegloticasi aumentati erano associati a livelli di pegloticasi notevolmente diminuiti come valutato dall'area sotto la curva (AUC) tempo-concentrazione rispetto ai livelli di pegloticasi nei
20 responder persistenti. Sebbene vi sia un'associazione tra perdita di risposta e sviluppo di titoli di pegloticasi più elevati, la perdita di risposta potrebbe verificarsi contemporaneamente o anche prima dell'aumento del titolo anticorpale. Pertanto, le determinazioni dei titoli non sono predittive per la perdita di risposta a pegloticasi.

B

Effetti di anticorpi anti-pegloticasi sulla risposta di SUA/PUA: SUA/PUA come surrogato di anticorpi anti-pegloticasi fisiologicamente rilevanti.

È stato ulteriormente studiato quando l'aumento di SUA al di
5 sopra di 6 mg/dL si è verificato nel gruppo di responder transitori dopo la
somministrazione di pegloticasi 8 mg ogni 2 sett. Ciascun punto nel
riquadro superiore della Figura 4 rappresenta il primo valore SUA
misurato che ha superato il valore di soglia di 6 mg/dL e il momento in
cui questo evento si è verificato per ciascun singolo responder transitorio
10 nel gruppo ogni 2 sett. La Figura 5 mostra i titoli anticorpali corrispondenti
che sono stati misurati al o prima del momento della perdita di risposta a
uricasi. Tuttavia, dato che il trattamento con pegloticasi ogni 2 sett
determina valori di SUA che sono generalmente inferiori a 3 mg/dL, il
valore soglia di SUA che rappresenta una perdita di risposta a pegloticasi
15 può essere impostato a un valore ancora più basso, per esempio da circa
3,5 mg/dL a circa 7 mg/dL. Ma poiché l'aumento di SUA dovuto alla
perdita di risposta da pegloticasi è generalmente rapido, 6 mg/dL è una
delle soglie accettate per il controllo dell'acido urico mediante farmaci
che abbassano l'urato. Tuttavia, 4 mg/dL e 5 mg/dL possono essere usati
20 con successo in questi esperimenti come valore di soglia per il controllo
dell'acido urico mediante farmaci che abbassano l'urato.

Al momento della perdita di normalizzazione di SUA nel gruppo
ogni 2 sett, vale a dire quando SUA superava 6 mg/dL, vi era un ampio
intervallo di titoli anticorpali anti-pegloticasi cosicché non è comparso
25 alcun titolo anticorpale di soglia che corrispondesse a questa perdita di

risposta, come mostrato nella Figura 5. Specificamente, al momento della perdita di risposta all'urato, i titoli anticorpali anti-pegloticasi medi erano 1:3032 per il gruppo ogni 2 sett rispetto a un titolo medio più alto di 1:686 per i responder persistenti del gruppo ogni 2 sett.

5 **Reazione di infusione e perdita di normalizzazione SUA.**

La maggior parte dei pazienti (90,9%) ha avuto reazioni da infusione dopo la perdita di attività di pegloticasi, cioè quando i valori di SUA erano superiori o uguali a 5 mg/dL (Tabella 1).

10 Tabella 1. Categoria SUA al momento della reazione da infusione in pazienti che ricevono pegloticasi ogni 2 settimane

<u>Categoria SUA</u>	Oticasi 8 mg ogni 2 sett n/N (%)	Placebo n/N (%)
Numero di pazienti con reazione da infusione (IR) quando SUA \geq 5 mg/dL	20/22 (90,9)	2/43 (4,7)
Numero di pazienti con reazione da infusione (IR) quando SUA < 5 mg/dL	1/22 (4,5)	0
Numero di pazienti con reazione da infusione (IR) alla prima dose	1/22 (4,5)	0

Come mostrato nella Tabella 1, nel gruppo ogni 2 sett, il 90,9% di reazioni da infusione sarebbe stato impedito se la terapia con pegloticasi fosse stata interrotta al punto temporale in cui SUA \geq 5 mg/dL.

In sintesi, anticorpi anti-pegloticasi hanno effetti diretti sulle proprietà farmacocinetiche e farmacodinamiche di pegloticasi e spiegano l'effetto transitorio di pegloticasi nei pazienti che sviluppano anticorpi fisiologicamente rilevanti. Sebbene l'aumentata clearance di pegloticasi con la risultante perdita di risposta SUA/PUA sia mediata da anticorpi anti-pegloticasi, l'avvio di una clearance aumentata non è correlato al titolo anticorpale anti-pegloticasi. Pertanto, la misurazione dei titoli anticorpali anti-pegloticasi non è predittiva della perdita della risposta SUA/PUA, mentre il monitoraggio di SUA/PUA è un surrogato molto buono per misurare lo sviluppo di anticorpi anti-pegloticasi che causano una maggiore clearance della pegloticasi somministrata. Cosa ancora più importante, monitorare i valori di SUA, in particolare durante i primi 4 mesi dopo l'inizio del trattamento con pegloticasi, e interrompere il trattamento con pegloticasi quando i valori di SUA aumentano a livelli superiori a circa da 3,5 a 4 mg/dL è un metodo semplice per identificare gli individui che perdono risposta a pegloticasi e sono a rischio maggiore di sperimentare una reazione da infusione.

ESEMPIO 2: profili di immunogenicità e reazione da infusione di studio clinico di fase III: somministrazione endovenosa di pegloticasi a 8 mg ogni 4 settimane

Studio clinico che usa infusione di pegloticasi.

È stato eseguito uno studio clinico multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, come indicato nell'esempio 1 sopra. Pazienti con iperuricemia e gotta hanno ricevuto pegloticasi 8 mg

per via endovenosa ogni 4 settimane (N=84) o placebo (N=43). Il trattamento è stato somministrato per 24 settimane.

I pazienti dovevano aver interrotto l'assunzione di qualsiasi agente di riduzione dell'acido urico da almeno una settimana prima di ricevere il farmaco in studio e dovevano astenersi dall'usare tali agenti durante lo studio.

Anticorpi anti-pegloticasi sono stati rilevati nell'88% dei pazienti nel gruppo pegloticasi 8 mg ogni 4 sett e solo nel 15% del gruppo placebo.

Come mostrato nella Figura 6, la farmacocinetica di pegloticasi somministrata ogni 4 settimane è significativamente influenzata dalla presenza di anticorpi anti-pegloticasi. I responder persistenti avevano concentrazioni di picco di pegloticasi (C_{max}) più elevate in entrambi i gruppi rispetto a responder transitori.

La Tabella 2 mostra che la maggior parte dei pazienti (76,5%) che hanno avuto una reazione di infusione aveva valori di SUA pari o superiori a 6 mg/dL al momento in cui si è verificata la reazione da infusione. Queste reazioni da infusione si sarebbero potute prevenire se pegloticasi fosse stata interrotta al punto temporale in cui i valori di SUA erano \geq 6 mg/dL. Quattro pazienti hanno avuto reazioni da infusione quando SUA era inferiore a 6 mg/dL e quattro pazienti hanno avuto una reazione da infusione alla prima dose; non si sarebbe potuta impedire nessuna di queste reazioni di infusione monitorando i valori SUA.

Tabella 2. Categoria SUA al momento della reazione da infusione in pazienti che ricevono pegloticasi ogni 4 settimane

B

<u>Categoria SUA</u>	Pegloticasi 8 mg ogni 4 sett n/N (%)	Placebo n/N (%)
Numero di pazienti con IR quando SUA \geq 6 mg/dL	26/34 (76,5)	2/43 (4,7)
Numero di pazienti con reazione da infusione (IR) quando SUA < 6 mg/dL	4/34 (11,8)	0
Numero di pazienti con reazione da infusione (IR) alla prima dose	4/34 <u>(11,8)</u>	0

RIVENDICAZIONI

1. Uricasi PEGilata da usare in un metodo per prevenire reazioni da infusione durante una terapia con uricasi PEGilata in un paziente affetto da gotta, in cui il livello di acido urico sierico del paziente è stato
5 normalizzato tra 3,5 mg/dL e 6,0 mg/dL mediante uricasi PEGilata, in cui il metodo comprende:

- a) somministrare a detto paziente uricasi PEGilata;
- b) ottenere un campione biologico da detto paziente;
- c) determinare i livelli di acido urico in detto campione biologico;

10 e

d) interrompere la terapia per prevenire reazioni di infusione quando detto livello di acido urico determinato nel passaggio c) è superiore a 6 mg/dL.

2. Uricasi PEGilata da usare secondo la rivendicazione 1, in cui
15 l'uricasi PEGilata viene somministrata a un dosaggio di 4 mg o 8 mg ogni due settimane.

3. Uricasi PEGilata da usare secondo la rivendicazione 1, in cui l'uricasi PEGilata viene somministrata a un dosaggio di 8 mg o 12 mg ogni quattro settimane.

20 4. Uricasi PEGilata da usare secondo una qualsiasi rivendicazione precedente, in cui il campione biologico è siero.

5. Uricasi PEGilata da usare secondo una qualsiasi rivendicazione precedente, in cui i livelli di acido urico nel campione biologico vengono determinati tra 24 ore e 2 settimane dopo la
25 somministrazione dell'uricasi PEGilata.

6. Uricasi PEGilata da usare secondo una qualsiasi rivendicazione precedente, in cui i livelli di acido urico nel campione biologico vengono determinati 2 settimane dopo la somministrazione dell'uricasi PEGilata.

5 7. Uricasi PEGilata da usare secondo una qualsiasi rivendicazione precedente, in cui la gotta è refrattaria.

8. Uricasi PEGilata da usare secondo una qualsiasi rivendicazione precedente, in cui la gotta è cronica o tofacea.

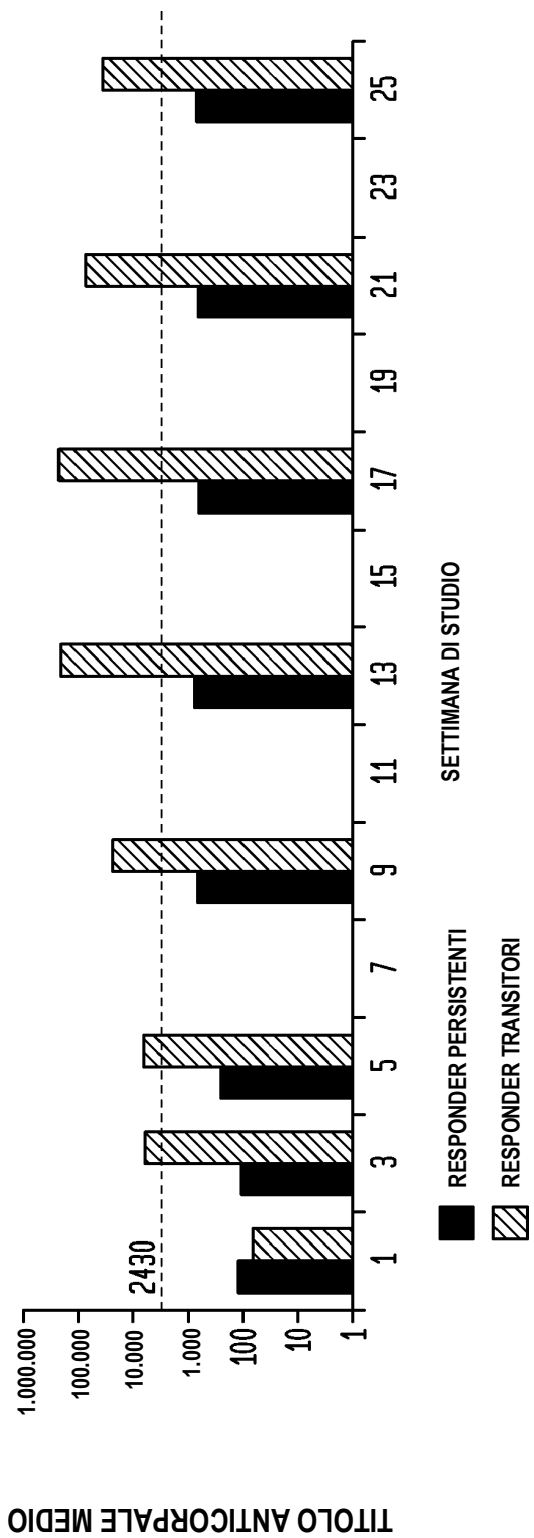
9. Uricasi PEGilata da usare secondo una qualsiasi
10 rivendicazione precedente, in cui l'uricasi PEGilata viene somministrata per via endovenosa.

Si attesta la perfetta conformità della traduzione che precede

B

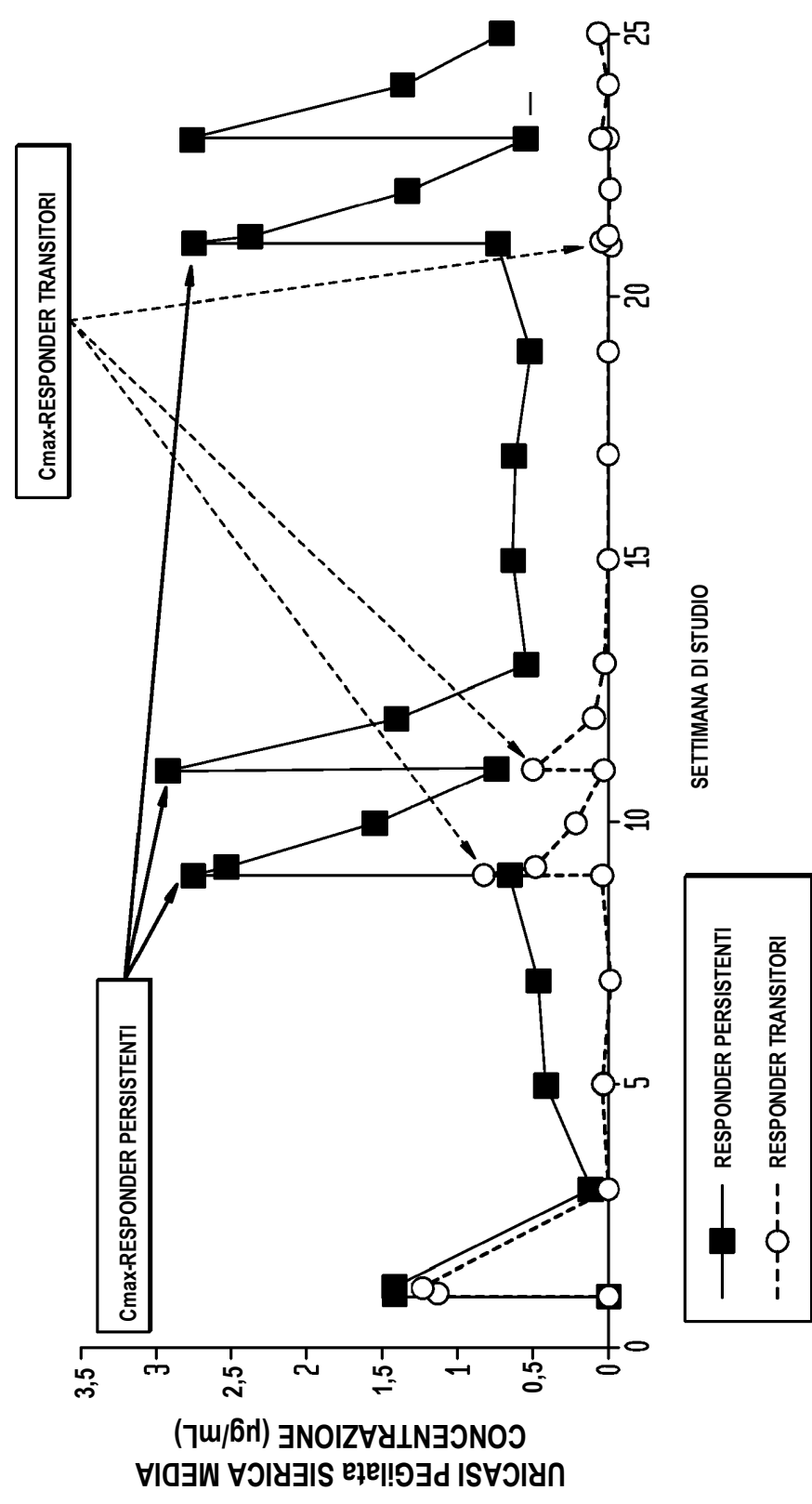
Disegni

Figura 1



FB

Figura 2



B

Figura 3

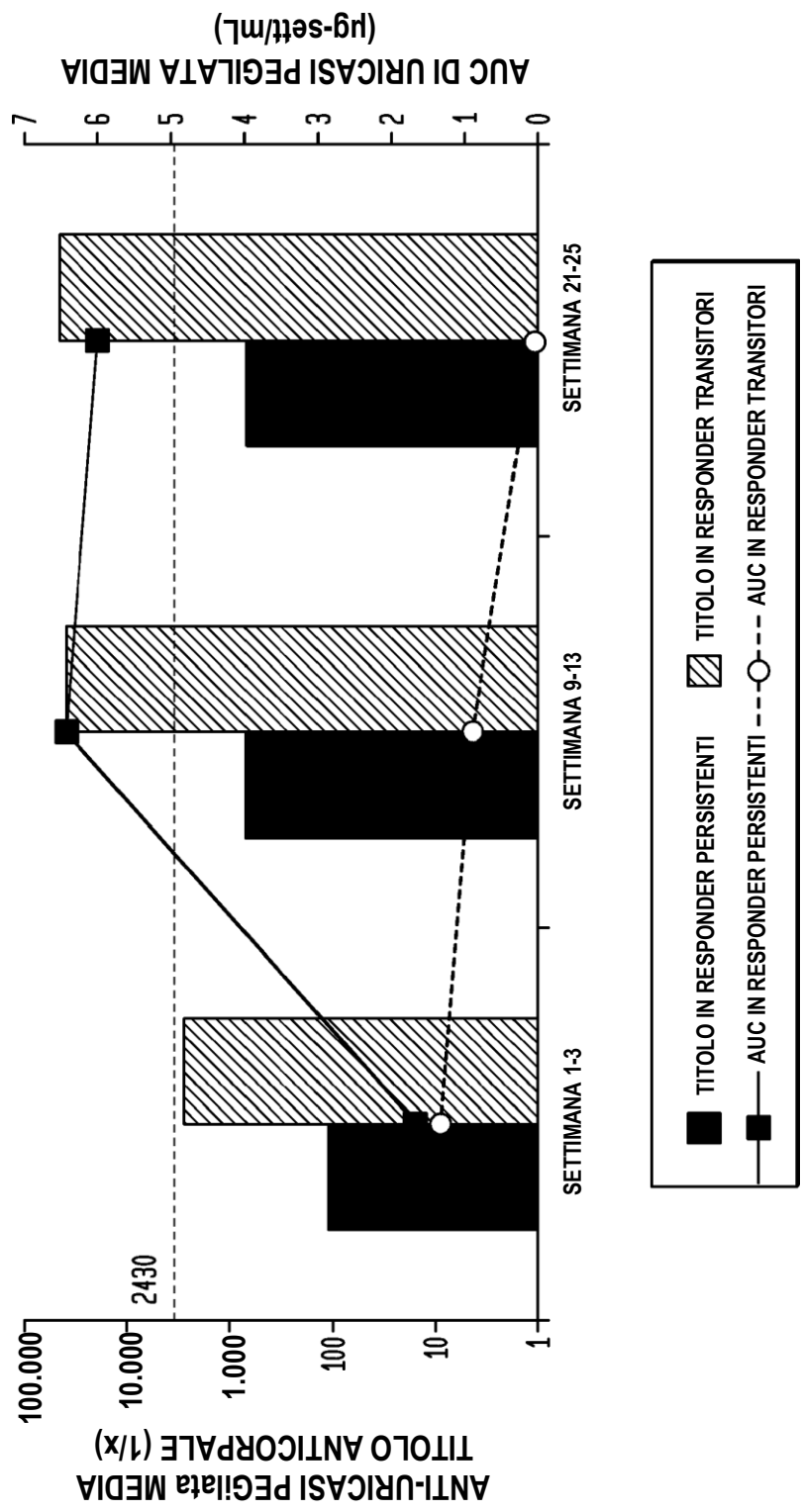
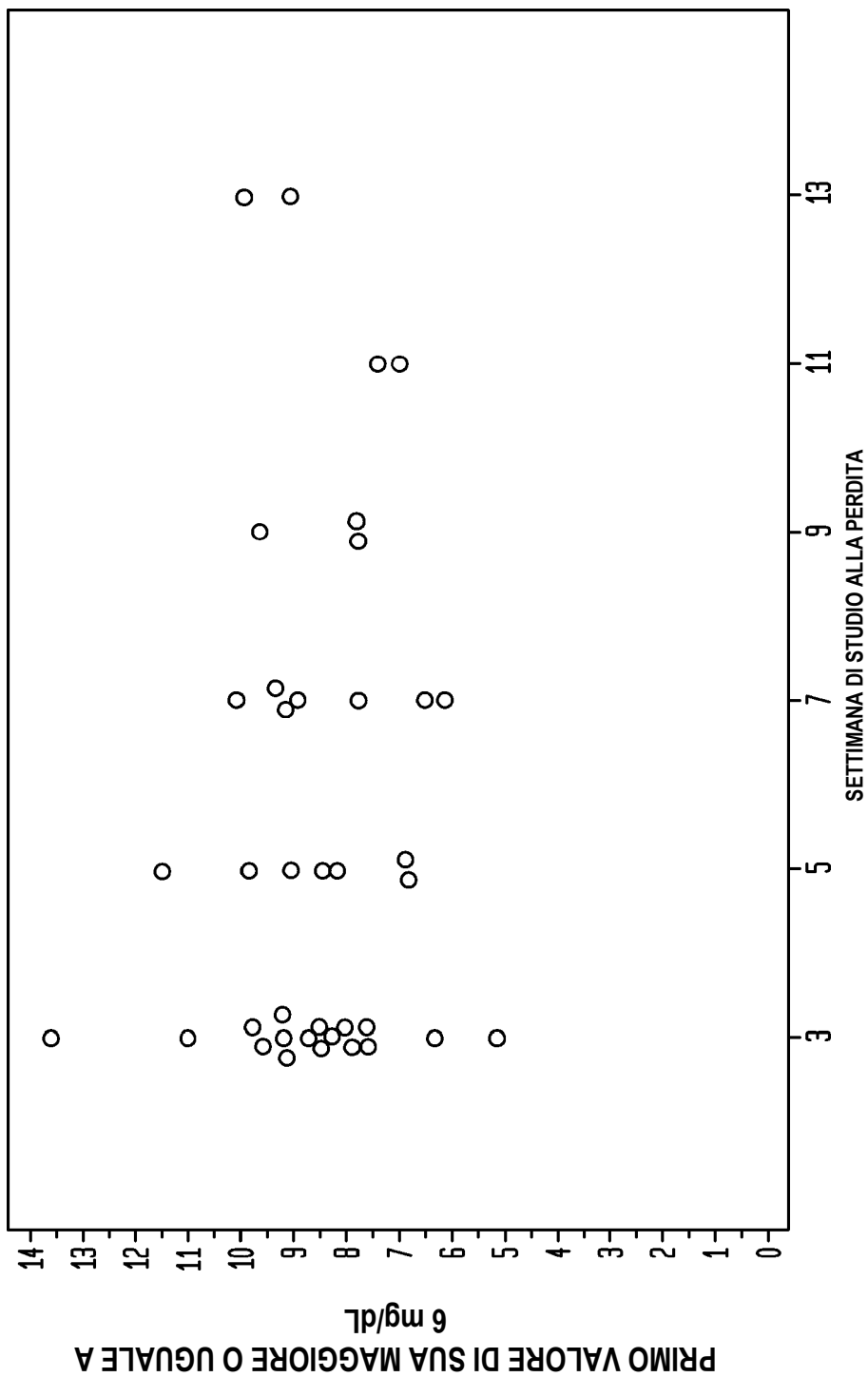
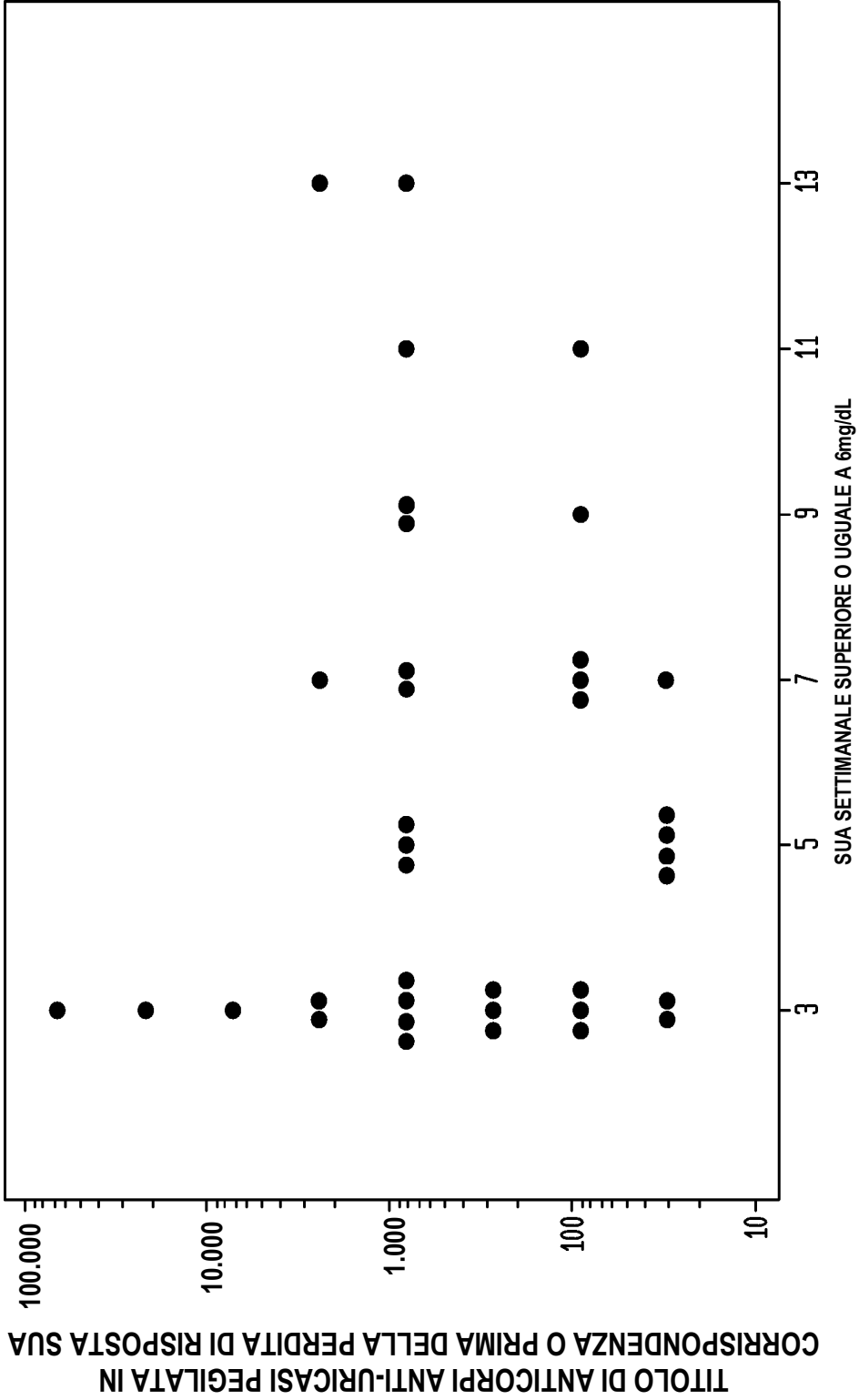


Figura 4



B

Figura 5



B

Figura 6

