



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **85055** (13) **C2**
(51) **МПК (2006)**
A61K 39/395
A61K 31/573 (2008.01)
A61P 21/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЗАСТОСУВАННЯ ІНГІБІТОРІВ МІОСТАТИКА (GDF8) В ПОЄДНАННІ З КОРТИКОСТЕРОЇДАМИ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ НЕРВОВО-М'ЯЗОВИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

1

(21) a200512673
(22) 01.06.2004
(24) 25.12.2008
(86) PCT/US2004/017049, 01.06.2004
(31) 60/474,603
(32) 02.06.2003
(33) US
(46) 25.12.2008, Бюл.№ 24, 2008 р.
(72) УІТТМОР ЛАЙЗ-ЕНН, ЛІ СЯНПІН
(73) УАЙТ
(56) WO 02/029105 A1, 11.04.2002
WO 03/027248 A2, 03.04.2003
US 2002/0150577 A1, 17.10.2002
KHURANA TEJVI R S ET AL: "Pharmacological strategies for muscular dystrophy." NATURE REVIEWS. DRUG DISCOVERY. MAY 2003, vol. 2, no. 5, May 2003 (2003-05), pages 379-390
WAGNER KATHRYN R ET AL: "Loss of myostatin attenuates severity of muscular dystrophy in mdx mice." ANNALS OF NEUROLOGY, vol. 52, no. 6, December 2002 (2002-12), pages 832-836
WHITTEMORE LISA-ANNE ET AL: "Inhibition of myostatin in adult mice increases skeletal muscle mass and strength." BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 300, no. 4, 24 January 2003 (2003-01-24), pages 965-971
HILL JENNIFER J ET AL: "The myostatin propeptide and the follistatin-related gene are inhibitory binding proteins of myostatin in normal serum" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 277, no. 43, 25 October 2002 (2002-10-25), pages 40735-40741
LEE SE-JIN ET AL: "Regulation of myostatin activity and muscle growth" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, vol. 98, no. 16, 31 July 2001 (2001-07-31), pages 9306-9311
HUDECKI M S ET AL: "Strength and endurance in the therapeutic evaluation of prednisolone-treated MDX mice." RESEARCH COMMUNICATIONS IN CHEMICAL PATHOLOGY AND PHARMACOLOGY. JAN 1993, vol. 79, no. 1, January 1993 (1993-01), pages 45-60
MERLINI LUCIANO ET AL: "Early prednisone treatment in Duchenne muscular dystrophy."

2

MUSCLE AND NERVE, vol. 27, no. 2, February 2003 (2003-02), pages 222-227
GRANCHELLI J A ET AL: "Pre-clinical screening of drugs using the mdx mouse." NEUROMUSCULAR DISORDERS : NMD. JUN 2000, vol. 10, no. 4-5, June 2000 (2000-06), pages 235-239
MUNTONI FRANCESCO ET AL: "Steroids in Duchenne muscular dystrophy: from clinical trials to genomic research." NEUROMUSCULAR DISORDERS : NMD. OCT 2002, vol. 12 Suppl 1, October 2002 (2002-10), pages S162-S165
LANG CHARLES H ET AL: "Regulation of myostatin by glucocorticoids after thermal injury" FASEB JOURNAL, vol. 15, no. 10, August 2001 (2001-08), pages 1807-1809
KUN M.A. ET AL: 'Glucocorticoid-induced skeletal muscle atrophy is associated with upregulation of myostatin gene expression' AM J PHYSIOL ENDOCRINOL METAB vol. 285, 29 April 2003, page E363-E371
(57) 1. Спосіб лікування ссавця з послабленою функцією м'язів, що передбачає введення ссавцеві терапевтично ефективної кількості щонайменше одного інгібітора фактора росту та диференціювання 8 (GDF-8) і терапевтично ефективної кількості щонайменше одного кортикостероїду протягом періоду часу, достатнього для лікування зниженої функції м'язів.
2. Спосіб за п. 1, де функцію м'язів, щонайменше одного м'яза, оцінюють щонайменше по одному параметру, вибраному з м'язової маси, сили скорочення м'яза, концентрації креатинкінази (КК) в сироватці або морфології м'яза.
3. Спосіб за п. 1, де м'яз, на функцію якого спрямоване лікування, вибраний щонайменше з одного з наступних м'язів: ікроножного м'яза, переднього великогомілкового м'яза, чотириглавого м'яза стегна, довгого розгинача пальців стопи, серцевого м'яза і м'яза діафрагми.
4. Спосіб за п. 1, де лікування вказаного ссавця приводить до підвищення маси тіла вказаного ссавця.
5. Спосіб за п. 1, де лікування вказаного ссавця приводить до підвищення сили схоплювання.

(13) **C2**

(11) **85055**

(19) **UA**

6. Спосіб за п. 1, де спосіб приводить до лікування кардіоміопатії вказаного ссавця.
7. Спосіб лікування м'язової слабкості, що передбачає введення ссавцеві терапевтично ефективної кількості щонайменше одного інгібітора GDF-8 і терапевтично ефективної кількості щонайменше одного кортикостероїду протягом часу, достатнього для лікування послаблення функції м'язів.
8. Спосіб профілактики і/або лікування індукованої кортикостероїдом м'язової атрофії ссавця, який отримує терапію кортикостероїдами, що передбачає введення ссавцеві терапевтично ефективної кількості щонайменше одного інгібітора GDF-8.
9. Спосіб лікування нервово-м'язового порушення, що передбачає введення ссавцеві, що страждає нервово-м'язовим порушенням або що має ризик розвитку нервово-м'язового порушення, терапевтично ефективної кількості щонайменше одного інгібітора GDF-8 і терапевтично ефективної кількості щонайменше одного кортикостероїду протягом часу, достатнього для лікування цього нервово-м'язового порушення.
10. Спосіб за п. 9, де нервово-м'язовим порушенням є м'язова дистрофія.
11. Спосіб за п. 10, де м'язовою дистрофією є м'язова дистрофія Дюшена.
12. Спосіб за п. 10, де м'язовою дистрофією є м'язова дистрофія Беккера.
13. Спосіб за будь-яким з пп. 1-12, де ссавцем є людина.
14. Спосіб за будь-яким з пп. 1-12, де кортикостероїд вибраний з щонайменше одного з:
(а) щонайменше одного з беклометазону дипропіонату, будесоніду, кортизолу, дексаметазону, флутиказону пропіонату, мометазону фууроату, преднізону або триамцинолону ацетоніду;
(б) похідного щонайменше одного з беклометазону дипропіонату, будесоніду, кортизолу, дексаметазону, флутиказону пропіонату, мометазону фууроату, преднізону або триамцинолону ацетоніду;

(с) фармацевтично прийнятної солі щонайменше одного з беклометазону дипропіонату, будесоніду, кортизолу, дексаметазону, флутиказону пропіонату, мометазону фууроату, преднізону або триамцинолону ацетоніду.

15. Спосіб за будь-яким з пп. 1-12, де кортикостероїдом є преднізон або преднізолон.
16. Спосіб за будь-яким з пп. 1-12, де кортикостероїд вводять в дозі між 0,1 і 2,0 мг/кг/день.
17. Спосіб за будь-яким з пп. 1-12, де кортикостероїд вводять перорально.
18. Спосіб за будь-яким з пп. 1-12, де інгібітор GDF-8 вибраний з антитіла до GDF-8, антитіла до рецептора GDF-8, розчинного рецептора GDF-8, пропептиду GDF-8, інгібітора GDF-8 з малою молекулою, фолістатину або білка, що містить домен фолістатину.
19. Спосіб за п. 18, де антитіло до GDF-8 вибране з JA-16, Myo29, Myo28 або Myo22.
20. Спосіб за п. 18, де пропептид GDF-8 мутований за залишком аспартату.
21. Спосіб за п. 18, де пропептид GDF-8 приєднаний до Fc-частини імуноглобуліну.
22. Спосіб за п. 18, де рецептором GDF-8 є ActRIIB.
23. Спосіб за п. 18, де рецептор GDF-8 приєднаний до Fc-частини імуноглобуліну.
24. Спосіб за п. 18, де інгібітором GDF-8 є фолістатин.
25. Спосіб за п. 18, де білком, що містить домен фолістатину, є GASP-1.
26. Спосіб за п. 18, де інгібітором GDF-8 є інгібітор з малою молекулою.
27. Спосіб за будь-яким з пп. 1-12, де введення інгібітора GDF-8 і кортикостероїду проводять одночасно.
28. Спосіб за будь-яким з пп. 1-12, де введення інгібітора GDF-8 і кортикостероїду проводять послідовно.

Дана заявка вимагає пріоритет попередньої заявки Сполучених Штатів №60/474603, поданої 2 червня 2003 року, яка приведена тут як посилання в повному об'ємі.

Винахід відноситься до галузі клінічної патофізіології і, більш конкретно, до способів лікування нервово-м'язових порушень, таких як м'язова дистрофія. Винахід відноситься також до фармацевтичних композицій, що містять кортикостероїди і інгібітори росту і диференціювання.

М'язові дистрофії (МД) є прогресуючими спадковими нервово-м'язовими порушеннями, які характеризуються м'язовою атрофією і слабкістю [Emery (2002) *The Lancet*, 358: 687-695]. Більшість форм м'язових дистрофій є летальними і в цей час невиліковними.

Найбільш поширеним захворюванням є м'язова дистрофія Дюшена (ДМД), X-пов'язане нервово-м'язове захворювання. Ця хвороба зумовлена мутаціями в гені ДМД, що кодує дистрофін. Зміна або відсутність цього білка приводить до патологі-

чного розриву плазматичної мембрани м'язового волокна сарколеми. Відмітними ознаками даного захворювання є патологічна зміна діаметра м'язових волокон (атрофічні і гіпертрофічні волокна) в проксимальних м'язах і прогресуюче пошкодження м'язів. Пошкоджений м'яз виділяє внутрішньоклітинний фермент креатинкіназу (КК). У результаті сироваткові рівні КК у пацієнтів з ДМД є особливо високими (до десятиразового рівня в порівнянні з нормальним). Цей патофізіологічний каскад ускладнюється запаленням тканини, некрозом м'язового волокна і заміною м'яза фіброзно-жировою тканиною.

Інший алельний варіант гена ДМД викликає більш м'яку форму МД, відому як м'язова дистрофія Бекера (БМД). БМД клінічно схожа з ДМД, але виникнення симптомів відбувається в більш пізньому віці.

Багато які фармакологічні агенти були випробувані в МД, але жоден з них не був ефективним в зупинці ходу цього захворювання. Існуючий режим

лікування все ще знаходиться в галузі фізичної медицини і реабілітації.

Ряд випробувань з використанням кортикостероїдів (наприклад, преднізону і/або його похідних) продемонстрували поліпшення в індивідуумів з МД, зокрема, в межах короткого терміну. Хоча точний механізм, за допомогою якого кортикостероїди ослабляють фенотип захворювання, є неясним, передбачається, що кортикостероїди діють за допомогою зменшення запалення, супресії імунної системи, поліпшення гомеостазу кальцію, підвищуючої регуляції експресії компенсаторних білків і збільшення проліферації міобластів [Khurana et al. (2003) *Nat. Rev. Drug Discovery* 2:279-386]. Однак кортикостероїди, що вводяться протягом часу, можуть індукувати м'язову атрофію, яка діє, передусім, на проксимальні м'язи саме ті м'язи, які вражаються в ДМД і БМД. Індукований кортикостероїдами м'яз і інші побічні ефекти можуть обмежувати довгострокову ефективність кортикостероїдної терапії.

GDF-8 є членом суперсімейства TGF- β і функціонує як негативний регулятор м'язового росту. Подібно до інших членів цього суперсімейства, GDF-8 синтезується у вигляді молекули-попередника, але перед секрецією він розщеплюється на N-кінцевий інгібіторний пропептид і C-кінцевий активний зрілий GDF-8. Пропептид може залишатися пов'язаним з GDF-8, інгібуючи тим самим біологічну активність зрілого GDF-8. Пропептид повинен дисоціюватися з цього комплексу, щоб GDF-8 зв'язувався з рецептором активіну типу II (ActRIIB). При скріпленні, ActRIIB ініціює каскад передачі сигналу, приводячи, зрештою, до інгібування прогресування міобластів. Було показано, що опосередковане антитілами інгібування GDF-8 *in vivo* значно збільшує розмір скелетних м'язів у здорової дорослої миші [Whittemore et al. (2003) *BBRC*, 300:965-971] і ослаблює дистрофічний фенотип на *mdx*-мишачій моделі ДМД [Bogdanovich et al. (2002) *Nature*, 420(28):418-421].

Однією з цілей даного винаходу є способи і композиції для лікування порушень, що характеризуються або асоційованих з ризиком зменшення функції м'язів. Додаткові об'єкти винаходу представлені в подальшому описі і частково будуть зрозумілі з опису або можуть бути виявлені при застосуванні на практиці винаходу.

Даний винахід оснований, частково, на виявленні і демонстрації того, що на мишачій моделі ДМД лікування введенням нейтралізуючого анти-GDF-8-антитіла і преднізону є більш ефективним для збільшення маси і сили м'язів відносно лікування тільки преднізоном. Далі, даний винахід оснований, частково, на виявленні і демонстрації того, що введення анти-GDF-8-антитіла з преднізоном зменшує індуковану преднізоном атрофію м'язів.

Таким чином, даний винахід відноситься до способів лікування нервово-м'язових порушень у ссавців. Описані способи передбачають введення суб'єкту, що має ризик розвитку нервово-м'язового захворювання або страждаючому нервово-м'язовим захворюванням, терапевтично ефективних кількостей щонайменше одного інгібітору GDF-8 і щонайменше одного кортикостероїду, так щоб

підтримувати бажані рівні цілісності м'язів або функції, що оцінюються, наприклад, по сироватковій концентрації креатинкінази (КК), гістології м'язів, томографії м'язів, активності повсякденного життя, м'язовій силі і/або масі. Популяції, що піддаються лікуванню способами даного винаходу, включають, але не обмежуються ними, пацієнтів, що мають м'язову дистрофію або мають ризик розвитку м'язової дистрофії, такий як, наприклад, ДМД або БМД, і суб'єктів, що піддаються кортикостероїдній терапії відносно цих або інших порушень.

Даний винахід відноситься також до способів лікування м'язової слабкості і способів лікування індукованої кортикостероїдами м'язової атрофії. Винахід включає в себе способи лікування кардіоміопатії.

Представлені способи введення і композиції, що використовуються в способах даного винаходу. В описаних способах інгібітор GDF-8 і кортикостероїд вводять одночасно або через інтервали, що перекриваються, або чергуються, або не перекриваються.

Інгібітори GDF-8, що використовуються в способах даного винаходу, включають в себе, але не обмежуються ними, антитіла до GDF-8; антитіла до рецепторів GDF-8; розчинні рецептори GDF-8 і їх фрагменти (наприклад, злиті поліпептиди ActRIIB, описані в [заявці на патент США №10/689677], що включають в себе розчинні рецептори ActRIIB, в яких ActRIIB сполучений з Fc-частиною імуноглобуліну); пропептид GDF-8 і його модифіковані форми [наприклад, описані в WO 02/068650 або заявці на патент США №10/071499], включаючи форми, в яких пропептид GDF-8 приєднаний в Fc-частині імуноглобуліну, і/або форму, в якій GDF-8 є мутованим при залишку аспартату (asp), наприклад, asp-99 в мишачому пропептиді GDF-8 і asp-100 в пропептиді GDF-8 людини); інгібітор GDF-8 з малою молекулою; фолістатин [наприклад, описаний в патенті США №6004937] або утримуючі домен фолістатину білки [наприклад, GASP-1 або інші білки, описані в заявках на патент США 10/369736 і 10/369738]; і модулятори металопротеазної активності, які впливають на активацію GDF-8, описані в [заявці на патент США №10/662438].

У деяких варіантах здійснення, інгібітором GDF-8 є моноклональне антитіло або його фрагмент, який блокує зв'язування GDF-8 з його рецептором. Не обмежуючі ілюстративні варіанти включають в себе моноклональне анти-GDF-8-антитіло не людини, наприклад, мишаче моноклональне антитіло JA-16 [описане в заявці на патент США №10/253532; номер депозиту в ATCC РТА-4236]; його похідні, наприклад, гуманізоване антитіло; і повністю людські моноклональні анти-GDF-8-антитіла [наприклад, Myo29, Myo28 і Myo22, описані в заявці на патент США №10/688925; номери депозитів в ATCC РТА-4741, РТА-4740 і РТА-4739, відповідно] або їх похідні.

Кортикостероїди, що використовуються в способі даного винаходу, включають в себе, але не обмежуються ними, беклометазону дипропіонат, будесонід, кортизол, дексаметазон, флутиказону пропіонат, мометазону фуруат, преднізон, триамцинолону ацетонід і їх похідні.

Повинно бути зрозуміло, що як попередній загальний опис, так і подальший докладний опис є тільки ілюстративними і пояснюють і не обмежують даний винахід, як він заявлений в формулі винаходу.

Фіг.1А і 1В зображають результати гістологічного аналізу м'яза діафрагми від мишей mdx, підданих лікуванню протягом чотирьох тижнів нейтралізуючим анти-GDF-8-антитілом JA-16 (60мг/кг, один раз на тиждень) і преднізоном (2мг/кг, 3 рази на тиждень), одним преднізоном або одним контрольним носієм. Фіг.1А показує тяжкість атрофії м'язових волокон по шкалі 0-4 в кінці цього випробування. Фіг.1В показує процент уражених (атрофованих) м'язових волокон в кінці випробування. Кожний стовпчик являє собою єдину мишу.

І. Визначення

Для більш легкого розуміння даного винаходу спочатку даються визначення деяким термінам. Додаткові визначення приведені протягом цього докладного опису.

Термін «антитіло», як використано в даному описі, відноситься до імуноглобуліну або його частини і включає в себе будь-який поліпептид, що містить антигензв'язувальний сайт, незалежно від джерела, способу отримання і інших характеристик. Як необмежувальний приклад, термін «антитіло» включає антитіла людини, орангутану, миші, щура, кози, вівці і курки. Цей термін включає, але не обмежується ними, поліклональні, моноклональні, моноспецифічні, поліспецифічні, неспецифічні, гуманізовані, одноланцюжкові, химерні, синтетичні, рекомбінантні, гібридні, мутовані і CDR-трансплантовані антитіла. Для цілей даного винаходу він включає, якщо не вказане інше, фрагменти антитіл, такі як Fab, F(ab')₂, Fv, scFv, Fd, dAb і інші фрагменти антитіл, які зберігають антигензв'язувальну функцію.

Антитіла можуть бути отримані, наприклад, за допомогою традиційних гібридомних способів [Kohler and Milstein (1975) *Nature*, 256:495-499], способів рекомбінантних ДНК [патент США №4816567] або способів фагового дисплея, що використовують бібліотеки антитіл [Clackson et al. (1991) *Nature*, 352:624-628; Marks et al. (1991) *J. Mol. Biol.*, 222:581-597]. Відносно різних інших способів отримання антитіл [див. *Antibodies: A Laboratory Manual*, eds. Harlow et al. Cold Spring Harbor Laboratory, 1988].

Термін «антигензв'язувальний домен» відноситься до частини молекули антитіла, яка містить зону, специфічно зв'язуючу частину антигена або весь антиген або комплементарну частині антигена або всьому антигену. Якщо антиген є великим, антитіло може зв'язуватися тільки з конкретною частиною цього антигена. Епітоп або антигенна детермінанта є частиною молекули антигена, яка відповідальна за специфічні взаємодії з антигензв'язувальним доменом антитіла. Антигензв'язувальний домен може бути забезпечений одним або декількома варіабельними доменами антитіла (наприклад, так званим Fd-фрагментом антитіла, що складається з VH-домена). Антигензв'язувальний домен містить варіабельний район (VL) легкого ланцюга антитілу і варіабельний район (VH) важкого ланцюга антитіла.

Термін «анти-GDF-8-антитіла» або «антитіло до GDF-8» відноситься до будь-якого антитіла, яке специфічно зв'язується щонайменше з одним епітопом GDF-8. Терміни «GDF-8-рецептор-антитіло» і «антитіло до рецептора GDF-8» відноситься до будь-якого антитіла, яке специфічно зв'язується щонайменше з одним епітопом GDF-8-рецептора, такого як ActRIIB. Термін «нейтралізуюче антитіло» відноситься до антитіла, яке є інгібітором GDF-8.

Термін "специфічна взаємодія", або "специфічно зв'язується" або т.п. означає, що дві молекули утворюють комплекс, який є відносно стабільним в фізіологічних умовах. Цей термін застосовний також, коли, наприклад, антигензв'язувальний домен є специфічним у відношенні конкретного епітопу, який може бути присутнім на ряді антигенів. Специфічне зв'язування характеризується високою афінністю з помірно високою місткістю. Неспецифічне зв'язування звичайно має низьку афінність з помірно високою місткістю. Звичайно, зв'язування вважається специфічним при константі афінності K_a , більшій, ніж $10^6 M^{-1}$, ніж $10^7 M^{-1}$ або переважно більшій, ніж $10^8 M^{-1}$. Якщо необхідно, неспецифічне зв'язування може бути зменшене по суті без впливу на специфічне зв'язування зміною умов зв'язування. Такі умови відомі в даній галузі і фахівець з кваліфікацією в даній галузі може з використанням рутинних способів вибрати відповідні умови. Ці умови звичайно визначаються в термінах концентрації антитіл, іонної сили розчину, температури, часу, що надається для зв'язування, концентрації сторонніх молекул (наприклад, сироваткового альбуміну, казеїну молока) і т.д.

Термін "функція м'язів" відноситься до здатності м'яза виконувати фізіологічну функцію, таку як скорочення, що вимірюється кількістю сили, яка генерується під час або судорожного скорочення, або титанічного скорочення. Інші способи для оцінки функції м'язів добре відомі в даній галузі і включають в себе, але не обмежуються ними, вимірювання м'язової маси, сили стискання (схоплювання), рівня КК в сироватці, активності повсякденного життя, тести руху або сили, гістологію тканини (наприклад, Е&А-фарбування або фарбування колагеном III) або томографію тканин. Необмежуючі ілюстративні способи оцінки функції м'язів приведені в прикладах.

Термін «GDF-8» відноситься до специфічного фактора-8 росту і диференціювання і, за необхідності, факторів, які структурно або функціонально родинні GDF-8, наприклад, BMP-11 і іншим факторам, що належать до суперсімейству TGF- β . Цей термін відноситься до повнорозмірній непроцесованій формі попередника GDF-8, а також до зрілої форми і форми пропептиду, що утворюються внаслідок посттрансляційного розщеплення. Цей термін відноситься також до будь-яких фрагментів і варіантів GDF-8, які зберігають щонайменше деяку біологічну активність, асоційовану зі зрілим GDF-8, як обговорювалося вище, в тому числі послідовностей, які були модифіковані. Даний винахід відноситься до GDF-8 від всіх видів хребетних, включаючи, але, не обмежуючись ними, людини, корови, курки, миші, щура, свині, вівці, індички, павіана і риби [відносно інформації про послідовності див.,

наприклад, McPherron et al. (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94:12457-12461].

Термін «зрілий GDF-8» відноситься до білка, який віщеплюється від карбокси-кінцевого домену білка-попередника GDF-8. Зрілий GDF-8 може бути присутнім у вигляді мономеру, гомодимеру або у вигляді латентного комплексу GDF-8. В залежності від умов, зрілий GDF-8 може встановлювати рівновагу між будь-якими або всіма цими різними формами. У його біологічно активній формі зрілий GDF-8 називають також «активним GDF-8».

Термін «пропептид GDF-8» відноситься до поліпептиду, який віщеплюється від амінокінцевого домену білка-попередника GDF-8. Пропептид GDF-8 здатний зв'язуватися з пропептидзв'язувальним доменом на зрілому GDF-8.

Термін «латентний комплекс GDF-8» відноситься до комплексу білків, утвореного між гомодимером зрілого GDF-8 і пропептидом GDF-8. Вважають, що два пропептиди GDF-8 асоціюються з двома молекулами зрілого GDF-8 в гомодимері з утворенням тетрамерного комплексу. Цей латентний комплекс може включати в себе інші інгібітори GDF замість одного або декількох пропептидів GDF-8 або в доповнення до одного або декількох пропептидів GDF-8.

Термін "активність GDF-8" відноситься до однієї або декількох фізіологічно регулюючих ріст або морфогенетичних активностей, асоційованих з білком GDF-8. Наприклад, активний GDF-8 є негативним регулятором маси скелетних м'язів. Активний GDF-8 може також модулювати утворення специфічних для м'язів ферментів (наприклад, креатинкінази), стимулювати проліферацію міобластів і модулювати диференціювання преадипоцитів в адипоцити. Зразкові методики для вимірювання активності GDF-8 *in vivo* і *in vitro* описані, наприклад, в заявці на [патент США №10/688925].

Як використано в даному описі, "інгібітор GDF-8" відноситься звичайно до будь-якої сполуки, яке знижувальним чином регулює активність GDF-8 і включає будь-який агент, здатний інгібувати активність, експресію, процесинг або секрецію GDF-8. Інгібітор GDF-8 може, наприклад, впливати на стабільність або перетворення молекули попередника в активну зрілу форму; заважати зв'язуванню GDF-8 з одним або декількома рецепторами; або заважати внутрішньоклітинній передачі сигналів рецептора GDF-8 ActRIIB. Такі інгібітори включають в себе білки, антитіла, пептиди, пептидоміметики, рибозими, антисмислові олігонуклеотиди, двохланцюжкову РНК і інші малі молекули, які специфічно інгібують GDF-8. Кажуть, що такі інгібітори "інгібують", "нейтралізують" або «зменшують» біологічну активність GDF-8.

Терміни «нейтралізували», «нейтралізуючі», «інгібуючі» і родинні ним терміни відносяться до зменшення активності GDF-8 інгібітором GDF-8, відносно активності GDF-8 за відсутності того ж інгібітора. Зменшення активності дорівнює переважно щонайменше на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% або більш. Способи оцінки нейтралізуючої або інгібуючої біологічної активності інгібіторів GDF-8 відомі в даній галузі і можуть бути виконані, наприклад, з використанням аналізу ActRIIB [наприклад, як описано в Whittemore et al.

(2003) BBRC, 300:965-87; або заявці на патент США №10/253532] і RGA-аналізів [описаних в Thies (2001) Growth Factors, 18: 251-259 або заявці на патент США №10/253532].

Термін «терапевтично ефективна доза» або «терапевтично ефективна кількість» відноситься до такої кількості сполуки, яка приводить до попередження, зменшення ризику виникнення або послаблення симптомів у пацієнта, або до бажаного біологічного результату, наприклад, поліпшеної функції м'язів, затриманому виникненню клінічних симптомів і т.д. Ефективна кількість може бути визначена, як описано в подальших розділах.

Термін "лікування", "терапевтичний спосіб" і близькі до них терміни відносяться до лікування або профілактичних/превентивних заходів. До суб'єктів, потребуючих лікування, можуть відноситися індивідууми, що вже мають конкретне медичне порушення, а також індивідуумів, які можуть, зрештою, придбати це порушення. Лікування включає в себе будь-яке зменшення в будь-якому симптомі описаного в даній заявці порушення. Крім зменшення або ослаблення симптомів, лікування включає також підтримку існуючого стану пацієнта при очікуванні погіршення або запобігання виникненню симптому у суб'єкта, в якого очікується виникнення симптому, порушення або захворювання. Лікування може полягати в зменшенні або зниженні однієї або декількох фізіологічних функцій відносно нормальної функції. Воно може також включати зменшення в порівнянні з очікуваними симптомами або очікуваним прогресуванням стану, порушення або захворювання.

II. Компоненти для застосування в способах винаходу

У способах даного винаходу використовують один або декілька інгібіторів GDF-8 в комбінації з одним або декількома кортикостероїдами.

A. Інгібітори GDF-8

Інгібітори GDF-8, що використовуються в способах даного винаходу, включають, але не обмежуються ними, антитіла до GDF-8; антитіла до GDF-8-рецепторів; розчинні рецептори GDF-8 і їх фрагменти [наприклад, злиті поліпептиди ActRIIB, описані в заявці на патент США №10/689677, в тому числі розчинні рецептори ActRIIB, в яких ActRIIB приєднаний до Fc-частини імуноглобуліну]; пропептид GDF-8 і його модифіковані форми [наприклад, описані в WO 02/068650 або заявці на патент США №10/071499, в тому числі форми, в яких пропептид GDF-8 приєднаний до Fc-частини імуноглобуліну, і/або форми, в яких GDF-8 мутований при залишку аспартату (asp), наприклад, asp-99, в мишачому пропептиді GDF-8, і asp-100 в пропептиді GDF-8 людини]; фолістатин [наприклад, описаний в патенті США №6004937] або утримуючі домен фолістатину білки [наприклад, GASP-1 або інші білки, описані в заявках на патент США 10/369736 і 10/369738]; і модулятори металопротеазної активності, які впливають на активацію GDF-8, описані в [заявці на патент США №10/662438].

У деяких варіантах здійснення, інгібітором GDF-8 є моноклональне антитіло або його фрагмент, який блокує зв'язування GDF-8 з його рецептором. Необмежуючі ілюстративні варіанти вклю-

чають моноклональне анти-GDF-8-антитіло не людини, наприклад, мишаче моноклональне антитіло JA-16 [описане в заявці на патент США №10/253532; номер депозиту в ATCC PTA-4236]; його похідні, наприклад, гуманізовані антитіла; і повністю людські моноклональні анти-GDF-8-антитіла [наприклад, Myo29, Myo28 і Myo22, описані в заявці на патент США №10/688925; номери депозитів в ATCC PTA-4741, PTA-4740 і PTA-4739, відповідно], або їх похідні.

У деяких варіантах здійснення, інгібітор GDF-8 блокує GDF-8 від зв'язування з його рецептором, за допомогою зв'язування з GDF-8 або з рецептором GDF-8. У різних варіантах здійснення інгібітором GDF-8 є анти-GDF-8-антитіло, яке має афінність у відношенні GDF-8, виражену у вигляді константи афінності (K_a), де K_a дорівнює щонайменше $10^5 M^{-1}$, $10^6 M^{-1}$, $10^7 M^{-1}$, $10^8 M^{-1}$, $10^9 M^{-1}$, $10^{10} M^{-1}$, $10^{11} M^{-1}$ або $10^{12} M^{-1}$. Розглядається також застосування на людях інгібіторів, які є гуманізованими формами і похідними антитіл не людини, отриманих з будь-якого вигляду хребетних тварин, описаними в заявках, що цитуються в даному описі на патент, або в [Antibody Engineering, ed. Borrebaeck, 2nd ed., Oxford University Press, 1995; і Antibodies: A Laboratory Manual, eds. Harlow et al. Cold Spring Harbor Laboratory, 1988].

В. Кортикостероїди

Кортикостероїди, що використовуються в способах даного винаходу, включають, але не обмежуються ними, беклометазону дипропіонат, будесонід, кортизол, дексаметазон, флутиказону пропіонат, преднізон, мометазону фураат, триамцинолону ацетонід і їх похідні.

Можуть бути також використані фармацевтичні або прийнятні солі сполук, що описуються.

Кортикостероїди комерційно доступні в різних фармацевтичних готових формах [Physician's Desk Reference (PDR) 2003, 57th ed., Medical Economics Company, 2002]. Наприклад, в пероральних формах комерційно доступні кортизон, гідрокортизон (Cortef®), преднізон (Deltasone®, Meticorten®, Orasone®), преднізолон (Delta-Cortef®, Pediapred®, Prelone®), триамцинолон (Aristocort®, Kenacort®), метилпреднізолон (Medrol®), дексаметазон (Decadron®, Dexone®, Hexadrol®), бетаметазон (Celestone®) і дефлазакорт (Cal cort®). Інші форми цих і інших кортикостероїдів можуть бути використані в способах даного винаходу.

С. Терапевтичні і профілактичні способи

Даний винахід відноситься до способів лікування суб'єктів ссавців, включаючи способи лікування втрати функції м'язів, м'язової слабкості і/або індукованої кортикостероїдом м'язової атрофії.

Способи даного винаходу передбачають введення ссавцеві терапевтично ефективною кількістю щонайменше одного інгібітора GDF-8 і терапевтично ефективною кількістю щонайменше одного кортикостероїду в кількостях і протягом періоду часу, достатніх для лікування щонайменше одного симптому з втрати функції м'язів, м'язової маси, м'язової слабкості, м'язової атрофії або кардіоміопатії. Ці способи можуть бути використані для лікування нервово-м'язових порушень, таких як м'язова дистрофія. У деяких варіантах здійснення, функція

м'язів поліпшується відносно такого ж лікування за відсутності або інгібітора GDF-8, або кортикостероїда. М'язи, які можуть бути піддані лікуванню, включають, але не обмежуються ними, ікроножний м'яз, передній великогомілковий м'яз, чотириохловий м'яз стегна, довгий розгинач пальців стопи, серцевий м'яз або м'яз діафрагми.

Нервово-м'язові порушення включають, але не обмежуються ними, будь-яке гостре або хронічне захворювання або порушення, яке погіршує функцію м'язів, викликає пошкодження м'яза або іншим способом спричиняє зменшення м'язової маси і/або функції. Відома велика різноманітність захворювань або порушень, і вони включають, наприклад, м'язову дистрофію, таку як м'язова дистрофія Дюшена, м'язова дистрофія Бекера, м'язова дистрофія Емері-Дрейфуса, тазово-плечова м'язова дистрофія, синдром ригідної спини, синдром Ульріха, м'язова дистрофія Фукуяма, синдром Уокера-Варбурга, м'язова хвороба очей, пов'язана з головним мозком, плече-лопатково-лицьова м'язова дистрофія, природжена м'язова дистрофія, міотонічна дистрофія (хвороба Стейнєр-та), недистрофічна міотонія, спінальна м'язова атрофія з періодичними паралічами, сімейний бічний аміотрофічний склероз, спадкова рухова і сенсорна невропатія, хвороба Шарко-Марі-Тутс, хронічна запальна невропатія, дистальна міопатія, міотубулярна/центронуклеарна міопатія, немалінова міопатія, mini core disease, природжена міопатія з ураженням серцевини м'язових волокон, десмінопатія, міозит з тельцями вклюдження, мітохондріальна міопатія, природжений міастенічний синдром, дисфункція м'язів після поліомієліту і порушення, описаний в [Emery (2002) The Lancet, 359:687-695 і Khurana et al. (2003) Nat. Rev. Drug Disc. 2:379-386]. Пацієнти можуть виявляти слабкість, помірну або важку м'язову слабкість, атрофію м'язів і впливу на незалежне пересування, пов'язані з таким порушенням. Пацієнти, що мають ризик розвитку подібних порушень, будуть отримувати користь від інгібітора GDF-8 і кортикостероїда.

Звичайно, пацієнтом, який буде отримувати користь від спільного введення інгібітора GDF-8 і кортикостероїда, є пацієнт, який виявляє 2-10-кратне або більш високе збільшення активності КК в сироватці, позитивний сімейний анамнез, атіпічну варіацію діаметра м'язових волокон, недостатність дистрофіну або мутацію в гені дистрофіну, втрату м'язової маси, слабкість м'язів, кардіоміопатію і/або втрату сили м'язів. Діагностичні процедури, в тому числі відповідне генетичне тестування, описані в [Diagnostic Criteria for Neuromuscular Disorders, ed. Emery, 2nd ed., Royal Society of Medicine Press, 1997]. Це комбіноване лікування може бути також корисним для суб'єктів, які піддаються кортикостероїдній терапії відносно порушень, інших, ніж нервово-м'язові порушення, і/або суб'єктів з анамнезом довгострокового застосування кортикостероїда, поки ці суб'єкти виявляють зменшення функції м'язів, що характеризується м'язовою слабкістю, втратою м'язової маси і/або м'язовою атрофією і т.д. або мають ризик такого зменшення функції м'язів. Приклади порушень, для яких часто застосовують кортикостероїдну терапію, включають, але не обмежуються ними,

астму, алергію, артрит, дерматологічні порушення (наприклад, запальні дерматози, екзему, псоріаз і т.д.), системний червоний вовчак і інші хронічні запальні стани.

Надані способи введення і композиції, що використовуються в способах даного винаходу. Введення не обмежується якою-небудь конкретною системою доставки і може включати, без обмеження, парентеральне (в тому числі підшкірну, внутрішньовенну, інтрамедулярну, внутрішньосуглобну, внутрішньом'язову або внутрішньочеревинну ін'єкцію), ректальне, місцеве, трансдермальне або пероральне (наприклад, в капсулах, суспензіях або таблетках) введення. Введення суб'єкту може виконуватися в єдиній дозі або у введеннях, що повторюються і в будь-якій з різних фізіологічно прийнятних форм солей, і/або з прийнятними фармацевтичним носієм і/або домішкою у вигляді частини фармацевтичної композиції. Фізіологічно прийнятні сольові форми і стандартні способи і ексципієнти для фармацевтичних композицій добре відомі фахівцям в даній галузі [наприклад, описані в Physician's Desk Reference (PDR) 2003, 57th ed., Medical Economics Company, 2002 і Remington: The Science and Practice of Pharmacy, eds. Gennado et al. 20th ed., Lippincott, Williams & Wilkins, 2000].

Інгібітор GDF-8 і кортикостероїд вводять одночасно або послідовно через інтервали, що перекриваються або не перекриваються. При послідовному введенні інгібітор GDF-8 і кортикостероїд можуть вводитися в будь-якому порядку. У деяких варіантах здійснення, довжина інтервалу, що перекривається або не перекривається, складає більше ніж 2, 4, 6, 12, 24 або 48 тижнів.

Для кортикостероїдів практикуючий лікар рутинним чином вибирає дозу і схему введення. Наприклад, преднізон використовують при приблизно 0,1-2мг на кілограм маси тіла в день і, звичніше, при 0,5-1мг/кг/день, наприклад, 0,75мг/кг/день. Кортикостероїд може вводитися при середніх тижневих дозах приблизно 1-14мг/кг маси тіла, включаючи приблизно 1, 2, 5, 7, 10, 12 або 15мг/кг маси тіла на тиждень, і практикуючий лікар може вибрати відповідну частоту введення. Можуть бути вибрані єдина доза, безперервне або періодичне введення кортикостероїда, включаючи часові, денні інтервали, два рази на тиждень, один раз на тиждень або інші періодичні інтервали. Переважно, кортикостероїди вводять перорально або ін'єкцією 1-4 рази на день. Доза кортикостероїдів може бути оптимізована у вигляді комбінованої терапії, і доза може бути знижена для зменшення значущих побічних ефектів введення.

Інгібітори GDF-8 можуть вводитися окремо або в суміші з кортикостероїдом або іншою сполукою. Інгібітори GDF-8 можуть вводитися в дозі приблизно від 1мг/кг до 25мг/кг, в залежності від фізіології, тяжкості симптомів і прогресування захворювання. Можуть бути вибрані єдина доза, безперервне або періодичне введення, з інтервалами між дозами інгібітора GDF-8, вибраними з часових, денних інтервалів, два рази на тиждень, один раз на тиждень, два рази на місяць, один раз на місяць або інших відповідних інтервалів. Наприклад, інгібітори GDF-8, такі як антитіла, можуть

вводитися у випадку амбулаторного пацієнта один раз на тиждень при дозі приблизно 0,1-10мг/кг внутрішньовенною (IV) інфузією, внутрішньочеревинною або підшкірною ін'єкцією. Звичайно, відповідна терапевтично ефективна доза інгібітора GDF-8 вибирається лікуючим лікарем і може складати діапазон приблизно від 1мг/кг до 20мг/кг, від 1мг до 10мг/кг, від 1мг/кг до 1мг/кг, від 10мг/кг до 1мг/кг, від 10мг/кг до 100мг/кг, від 100мг/кг до 1мг/кг і від 500мг/кг до 5мг/кг. Зразкові ефективні дози інгібітора GDF-8 становлять приблизно 0,1, 0,3, 0,5, 1, 5 10 або 20мг/кг на тиждень. Крім того, можуть бути використані конкретні дози, вказані в прикладах або в [Physician's Desk Reference (PDR) 2003, 57th ed., Medical Economics Company, 2002].

D. Способи тестування сполук на терапевтичну ефективність

Далі даний винахід відноситься до способів для тестування на тваринах, наприклад, гризунах або приматах, чи є терапевтична сполука ефективною при введенні в комбінації щонайменше з одним інгібітором GDF-8 і щонайменше одним кортикостероїдом. У деяких варіантах здійснення, спосіб оцінки ефективності сполуки передбачає: введення сполуки першій тварині в комбінації з інгібітором GDF-8 і кортикостероїдом; введення інгібітора GDF-8 і кортикостероїда другій тварині; визначення рівня функції м'язів у першій і у другій тварини після цих введень; і порівняння цих рівнів функції м'язів. Якщо рівень у першій тварини є більш низьким, ніж рівень у другій тварини, це свідчить про те, що дана сполука або дана комбінація є ефективною.

В інших варіантах здійснення, сполука може оцінюватися на ефективність в лікуванні м'язової дистрофії при введенні в комбінації з інгібітором GDF-8 і/або кортикостероїдом.

Для таких цілей оцінювання доступні декілька моделей тварин. Наприклад, була описана модель mdx, наприклад, [Torres et al. (1987) Brain, 110:269-299 і Hoffman et al. (1987) Science, 238:347-350]. Надзвичайно високі рівні КК постійно відмічаються з недостатністю дистрофіну у мишей mdx і у людей з ДМД внаслідок пошкодження сарколеми [Bulfield et al. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:1189-1192 і Matsuda et al. (1995) J. Biochem. (Tokyo), 118:959-64]. Як інший приклад, можуть бути використані дві інші моделі тварин: миші mdx utr-/ [Gillis (2002) Neuromuscul. Disord., 12(1): 90-84 і Deconick et al. (1997) Cell, 90: 729-738] і миші mdx nu-/ (Morrison et al. (2000) Lab. Invest., 80:881-891).

Приклади

Приклад 1

Дія нейтралізуючого GDF-8 антитіла на дистрофічний м'яз

Можливість інгібування in vivo GDF-8 для ослаблення м'язової дистрофії тестували на моделі ДМД миші mdx. П'яти-семитижневих самців мишей C57BL/10ScSn-mdx/j (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) лікували щотижневими внутрішньочеревинними ін'єкціями нейтралізуючого GDF-8 мишачого антитіла JA-16 (60мг/кг, подвійне введення дози в перший тиждень, n=11) і одного носія (контрольна група, n=10) протягом 12 тижнів. Цих мишей порівнювали також з мишами того ж самого

15

85055

16

початкового штаму (C57BL/10, n=12) без недостатності дистрофіну.

Масу тіла піддавали моніторингу до, під час і після лікування. Миші в групі лікування додавали

масу відносно мишей в контрольній групі з носієм. Результати показані в таблиці 1.

Таблиця 1

Загальна маса тіла (г). Середні величини з SEM

Тиждень випробування	JA-16 (mdx)	Контроль-носії (mdx)	Контроль-носії (без mdx)
0	21,92±0,42	22,51±0,36	19,18±0,40
4	27,82±0,43	26,76±0,60	24,14±0,27
8	29,59±0,54	28,49±0,58	25,31±0,28
12	32,42±0,57	31,12±0,73	27,17±0,39

Мишей піддавали також тесту схоплювання після 6 і 10 тижнів введення доз. Миші в групі чотирьох і десятих тижневого лікування мали на

9% (p=0,09) і 19% (p<0,05) відповідно велику силу схоплювання, ніж миші в контрольних групах з носієм. Результати показані в таблиці 2.

Таблиця 2

Сила схоплювання (lb). Середні величини з SEM

Тиждень випробування	JA-16 (mdx)	Контроль-носії (mdx)	Контроль-носії (без mdx)
6	0,261±0,011	0,239±0,006	0,239±0,011
10	0,249±0,006	0,210±0,014	0,247±0,010

Для кількісного визначення відмінності в м'язовій масі між групою лікування і контролем-носієм тварин умертвляли, чотирьохголів м'язи стегна сікли і зважували. Чотирьохголів м'язи з підданих лікуванню тварин важили на 13% більше, ніж контролі (0,371±0,009 проти 0,317±0,008г; p<0,05). Ікроножні м'язи з групи тварин з лікуванням важили на 17% більше, ніж контролі (0,223±0,008 проти 0,197±0,005 г; p<0,0005).

Приклад 2

Дія нейтралізуючого GDF-8 антитіла і преднізону на нормальний і дистрофічний м'яз

Самці мишей C57BL/10ScSn-mdx/j і C57BL/10 [Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME]. Мишаче моноклональне анти-GDF-8-антитіло JA-16, преднізон (P9901, Sigma) або носій (арахісову олію) ін'єктували, починаючи з віку 5-7 тижнів протягом 4 тижнів. Мишей внутрішньочеревинно (IP) ін'єктували JA-16 при дозі 60мг/кг на тиждень (подвійне введення доз в перший тиждень) або підшкірно (SC) ін'єктували преднізоном при 2мг/кг, 3 рази в тиждень.

Масу тіла і силу схоплювання піддавали моніторингу до, під час і після обробки. Результати показані в таблиці 3 і таблиці 4, відповідно.

Таблиця 3

Загальна маса тіла (середнє±SEM, г)

Тиждень випробування	Преднізон+JA-16 (mdx)	Преднізон (mdx)	Контроль-носії (mdx)	Контроль-носії (без mdx)
0	17,7±1,6	17,6±1,8	16,0±1,9	19,2±0,4
1	22,1±1,4	20,9±1,8	19,1±2,1	22,4±0,3
2	25,9±1,2	24,2±1,6	23,7±1,4	23,8±0,4
3	26,5±1,1	24,7±1,5	24,8±1,2	24,9±0,4
4	28,1±1,2	25,9±1,6	25,7±1,4	25,5±0,5

Таблиця 4

Сила схоплювання (середнє(SEM, 1b))

Тиждень випробування	Преднізон+JA-16 (mdx)	Преднізон (mdx)	Контроль-носії (mdx)	Контроль-носії (без mdx)
0	0,161±0,018	0,144±0,010	0,164±0,014	0,164±0,009
3	0,219±0,019	0,177±0,006	0,168±0,005	0,212±0,010
4	0,281±0,011	0,213±0,011	0,217±0,010	0,234±0,018

У кінці цього дослідження мишей умертвляли і м'язову масу оцінювали зважуванням ікроножного м'яза і чотирьохглавого м'яза стегна. Результати показані в таблиці 5. Для підтвердження біологічної активності преднізону сироватки з

окремої групи мишей збирали і аналізували на IL-6 і IL-1 β [Ani Lytics, Inc., Gaithersburg, MD]. Було виявлено, що обидва цитокіни знижені в сироватках мишей, оброблених преднізоном.

Таблиця 5

М'язова маса (середнє(SEM, г))

М'яз	Преднізон+JA-16 (mdx)	Преднізон (mdx)	Контроль-носії (mdx)	Контроль-носії (без mdx)
Ікроножна	0,364 \pm 0,019	0,287 \pm 0,023	0,299 \pm 0,019	0,280 \pm 0,010
Чотириголова	0,527 \pm 0,030	0,417 \pm 0,029	0,415 \pm 0,030	0,392 \pm 0,010

Таким чином, ці результати демонструють, що при м'язовій дистрофії введення інгібітора GDF-8, тобто анти-GDF-8-антитіла, і преднізону є ефективним в збільшенні м'язової маси і сили схоплювання відносно обробки одним преднізоном або одним носієм.

Крім того, в цих дослідженнях дії обробки JA-16 плюс преднізон (приклад 2) були більшими, ніж дії одного JA-16 (приклад 1). Збільшення маси тіла в порівнянні з масою тіла групи носія після чотирьох тижнів обробки було більш вражаючим для обробки JA-16 плюс преднізон, ніж для обробки тільки JA-16. Збільшення сили схоплювання в порівнянні з носієм-контролем після чотирьох тижнів обробки JA-16 плюс преднізон було більшим, ніж збільшення після шістдесяти тижнів обробки тільки JA-16. Збільшення в порівнянні з носієм-контролем м'язової маси після чотирьох тижнів обробки JA-16 плюс преднізон, було також більшим, ніж збільшення після дванадцяти тижнів обробки тільки JA-16.

Приклад 3

Дія нейтралізуючого GDF-8 антитіла на індуковану преднізоном м'язову атрофію

У мишей, оброблених, як описано в прикладі 2, м'яз діафрагми гістологічно досліджували, як описано в прикладі 1. Морфологічні зміни оцінювали в незалежній лабораторії патології, якій не були відомі віднесення до груп обробки. Міри тяжкості оцінювали по шкалі від 0 до 4 (0=відсутня; 1=мінімальна; 2=слабка; 3=помірна і 4=помітна). Результати показані на Фіг.1А (оцінки тяжкості в балах) і Фіг.1В (процент атрофованих м'язових волокон). Ці результати показують, що введення анти-GDF-8-антитіла з преднізоном зменшує індуковану преднізоном м'язову атрофію.

Приклад 4

Лікування м'язових дистрофій

Як приклад лікування МД в людях, антитіло МҮО29 вводили в комбінації з преднізоном або преднізолоном. Не обмежуючі зразкові схеми лікування і результати підсумовані в таблиці 6. Інші схеми лікування можуть бути визначені лікуючим лікарем, з діапазонами доз кортикостероїдів і інгібіторів GDF-8 і введенням, які обговорювалися вище.

Таблиця 6

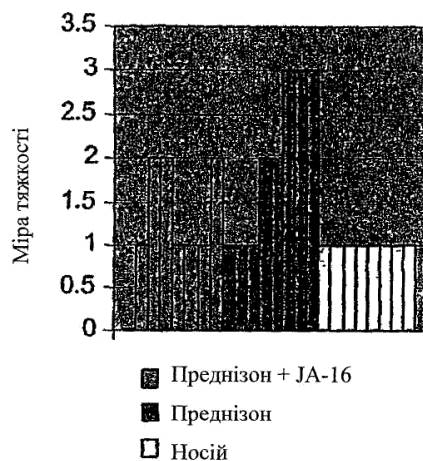
Номер пацієнта	Схема лікування	Мета лікування
1	2	3
Пацієнт 1	МҮО29 при 10мг/кг на тиждень, що вводиться ін'єкцією 2 рази на тиждень, плюс преднізон при 0,75мг/кг/день протягом 2 років або з продовженням лікування за необхідності	Підтримка і/або збільшення м'язової маси, сили і функцій в порівнянні з користю одного преднізону
Пацієнт 2	МҮО29 при 0,1мг/кг на тиждень, IV 1 разів, що вводиться на тиждень плюс преднізон при 1,0 мг/кг/день або з продовженням лікування за необхідності	Підтримка і/або збільшення м'язової маси, сили і функцій в порівнянні з користю одного преднізону
Пацієнт 3	МҮО29 при 1мг/кг на тиждень, що вводиться ін'єкцією 1 раз на місяць, плюс преднізон при 0,50мг/кг/день протягом 2 років або з продовженням лікування за необхідності	Підтримка і/або збільшення м'язової маси, сили і функції або збільшене збереження функції для груп м'язів, які не є вже порушеними, в порівнянні з користю одного преднізону
Пацієнт 4	МҮО29 при 20мг/кг на тиждень, що вводиться в єдиній дозі IV, плюс преднізон при 0,75мг/кг/день протягом 2 років або з продовженням лікування за необхідності	Підтримка і/або збільшення м'язової маси, сили і функції або збільшене збереження функції в порівнянні з користю одного преднізону
Пацієнт 5	МҮО29 при 0,1мг/кг на тиждень, що вводиться в єдиній дозі IV, плюс преднізон при 5мг/кг на тиждень, у міру необхідності	Підтримка і/або збільшення м'язової маси, сили і функцій в порівнянні з користю одного преднізону

Продовження таблиці 6

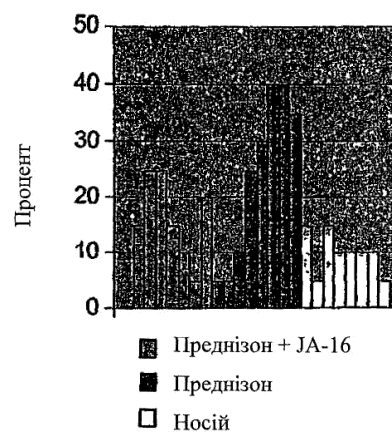
1	2	3
Пацієнт 6	Муо29 при 1мг/кг на тиждень, що вводиться один раз на тиждень IV плюс преднізон при 2мг/кг на тиждень або у міру необхідності	Підтримка і/або збільшення м'язової маси, сили і функцій в порівнянні з користю одного преднізону
Пацієнт 7	Муо29 при 10мг/кг на тиждень, що вводиться в єдиній дозі підшкірною ін'єкцією, плюс преднізон при 7мг/кг на тиждень протягом щонайменше 6 місяців або з продовженням лікування у міру необхідності	Підтримка і/або збільшення м'язової маси, сили і функцій в порівнянні з користю одного преднізону
Пацієнт 8	Муо29 при 20мг/кг на тиждень, що вводиться один раз на тиждень ін'єкцією, плюс преднізон при 14мг/кг на тиждень протягом 2 років або з продовженням лікування у міру необхідності	Підтримка і/або збільшення м'язової маси, сили і функцій в порівнянні з користю одного преднізону
Пацієнт 9	Муо29 при 1мг/кг на тиждень, що вводиться два рази в місяць IV, плюс преднізон при 10мг/кг на тиждень протягом щонайменше 1 місяць або з продовженням лікування у міру необхідності	Підтримка і/або збільшення м'язової маси, сили і функцій в порівнянні з користю одного преднізону
Пацієнт 10	Муо29 при 0,3мг/кг на тиждень, що вводиться 1 разів в місяць підшкірною ін'єкцією, плюс преднізон при 0,75мг/кг/день протягом 1 року, або одного преднізону з продовженням лікування у міру необхідності	Підтримка і/або збільшення м'язової маси, сили і функцій або збільшене збереження функції для груп м'язів в порівнянні з користю

Всі публікації, що цитуються і патенти і послідовності, ідентифіковані номерами доступу або

посилальний номерами баз даних, включені в даний опис як посилання увсій їх повноті.



Фіг. 1А



Фіг. 1В