

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 401 114**

51 Int. Cl.:

A61K 48/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.08.2005 E 05784428 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.01.2013 EP 1786472**

54 Título: **Modulación antisentido de la expresión de apolipoproteína B**

30 Prioridad:

10.08.2004 US 600785 P
23.09.2004 US 612831 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.04.2013

73 Titular/es:

GENZYME CORPORATION (100.0%)
500 KENDALL STREET
CAMBRIDGE, MA 02142, US

72 Inventor/es:

GEARY, RICHARD S.;
YU, ZHENGRONG y
CROOKE, ROSANNE M.

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 401 114 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Modulación antisentido de la expresión de apolipoproteína B.

Antecedentes de la invención**Campo de la invención**

- 5 En esta memoria se describen composiciones y métodos para reducir el colesterol LDL y el tratamiento de estos asociados con niveles elevados de colesterol. Más específicamente, la invención se refiere a composiciones y a métodos para inhibir la expresión de la apolipoproteína B en el hígado.

Descripción de la técnica relacionada

- 10 La cardiopatía coronaria (CHD, de las siglas en inglés de "coronary heart disease") ha sido la principal causa de muerte en los Estados Unidos durante más de un siglo, y complicaciones procedentes de la aterosclerosis son la causa más común de muerte en las sociedades occidentales (Knopp, *New Engl. J. Medicine*, 1999, 341, 498-511; Davis y Hui, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2001, 21, 887-898; Bonow, *Circulation*, 2002, 106, 3140-3141). Un colesterol LDL (lipoproteína de baja densidad) elevado está reconocido ampliamente como un factor de riesgo para la cardiopatía coronaria. Sin embargo, a pesar de la intervención farmacológica, muchas personas son incapaces de disminuir los niveles de colesterol LDL.

- 15 Las directrices para una terapia reductora de lípidos fueron establecidas por el Panel III de tratamiento de adultos del "National Cholesterol Education Program" (NCEP) en 2001. Modificaciones de estas directrices fueron recomendadas por el Comité de Coordinación del NCEP en 2004, e incluían unos objetivos con tratamientos más agresivos (Grundy et al., *Circulation*, 2004, 110, 227-239). Estas directrices definen 3 categorías de riesgo de eventos coronarios principales y proporcionan unos niveles deseables de colesterol LDL como objetivo. Los que tienen un mayor riesgo son los pacientes con CHD o un riesgo equivalente a CHD y deben mantener el colesterol LDL por debajo de 100 mg/dL. Las directrices más recientes del NCEP recomiendan que los pacientes con un riesgo muy elevado de CHD empleen una terapia con fármacos para lograr niveles de colesterol LDL inferiores a 70 mg/dL. Un riesgo equivalente a CHD se define como sujetos con diabetes, enfermedad vascular periférica, aneurisma de la aorta abdominal, enfermedad sintomática de la arteria carótida, y aquellos con factores de riesgo múltiples que proporcionan un riesgo de CHD en 10 años superior al 20%. Para la segunda categoría, los pacientes con riesgo moderadamente alto de CHD con factores de riesgo múltiples (2 o más), en los que el riesgo de cardiopatía coronaria en 10 años es del 20%, el objetivo es un colesterol LDL inferior a 130 mg/dL. Las recomendaciones más recientes incluyen una opción terapéutica para disminuir los niveles de colesterol LDL a menos de 100 mg/dL en la categoría de riesgo moderadamente alto. La tercera categoría incluye personas con factores de riesgo de 0-1 y el colesterol LDL objetivo es menor de 160 mg/dL. Los factores de riesgo incluyen la edad, el tabaquismo, la hipertensión, un colesterol HDL bajo y antecedentes familiares de CHD. La terapia con fármacos se debe iniciar cuando el colesterol LDL en suero se mantiene por encima de 130, 160 y 190 mg/dL en los 3 grupos de riesgo, respectivamente, a pesar de los cambios terapéuticos del estilo de vida (Grundy et al., *Circulation*, 2004, 110 227-239).

- 20 Las lipoproteínas de baja densidad son una de las cinco grandes clases de lipoproteínas, que incluyen las siguientes: quilomicrones, responsables del transporte de los lípidos de la dieta desde el intestino a los tejidos; lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL); lipoproteínas de densidad intermedia (IDL); lipoproteínas de baja densidad (LDL); todas ellas transportan triacilglicérols y colesterol desde el hígado a los tejidos; y las lipoproteínas de alta densidad (HDL), que transportan el colesterol endógeno desde los tejidos al hígado. Las partículas de lipoproteínas experimentan un procesamiento metabólico continuo y tienen propiedades y composiciones variables. Los componentes proteicos de las lipoproteínas se conocen como apolipoproteínas. Al menos nueve apolipoproteínas, una de las cuales es la apolipoproteína B, se distribuyen en cantidades significativas entre las diversas lipoproteínas humanas.

- 25 La apolipoproteína B (también conocida como ApoB, apolipoproteína B-100; ApoB-100, apolipoproteína B-48; ApoB-48 y antígeno Ag(x)), es una glicoproteína grande implicada en el ensamblaje y la secreción de lípidos y en el transporte y la absorción mediada por receptor, y la entrega de distintas clases de lipoproteínas. La apolipoproteína B realiza una variedad de funciones, incluyendo la absorción y el procesamiento de los lípidos de la dieta, así como la regulación de los niveles de lipoproteínas circulantes (Davidson y Shelness, *Annu. Rev. Nutr.*, 2000, 20, 169-193).

- 30 En los mamíferos existen dos formas de apolipoproteína B. La ApoB-100 representa la proteína de longitud completa que contiene 4536 residuos de aminoácidos, sintetizada principalmente en el hígado humano (Davidson y Shelness, *Annu. Rev. Nutr.*, 2000, 20, 169-193). Una forma troncada, conocida como apoB-48, es colineal con los 2152 residuos de aminoácidos terminales y se sintetiza en el intestino delgado de todos los mamíferos (Davidson y Shelness, *Annu. Rev. Nutr.*, 2000, 20, 169-193). En los seres humanos, apoB-48 circula asociada con los quilomicrones y los restos de quilomicrones y estas partículas son eliminadas por un receptor distinto conocido como proteína relacionada con el receptor de LDL (Davidson y Shelness, *Annu. Rev. Nutr.*, 2000, 20,

169-193). La apoB-48 se puede considerar como una adaptación, según la cual el lípido de la dieta se entrega desde el intestino delgado al hígado, mientras que la apoB-100 participa en el transporte y la entrega de colesterol (Davidson and Shelness, *Annu. Rev. Nutr.*, 2000, 20, 169-193). La apoB-100 es el principal componente proteico de LDL y contiene el dominio necesario para la interacción de esta especie de lipoproteína con el receptor de LDL. Además, la apoB-100 contiene un residuo de cisteína no emparejado que media la interacción con la apolipoproteína (a) y genera lipoproteína (a) o Lp(a), otra lipoproteína distinta con potencial aterogénico (Davidson y Shelness, *Annu. Rev. Nutr.*, 2000, 20, 169-193). Niveles plasmáticos elevados de lipoproteína Lp(a) que contiene apoB-100, están asociados con un mayor riesgo de aterosclerosis y sus manifestaciones, que pueden incluir la hipercolesterolemia (Seed et al., *N. Engl. J. Med.*, 1990, 322, 1494-1499), infarto de miocardio (Sandkamp et al., *Clin. Chem.*, 1990, 36, 20-23) y trombosis (Nowak-Gottl et al., *Pediatrics*, 1997, 99, E11).

La apolipoproteína B está implicada en la homeostasis del colesterol y su hiperproducción se ha asociado con varias enfermedades, incluyendo hipercolesterolemia familiar, apoB-100 defectuosa familiar e hipercolesterolemia familiar combinada (Kane y Havel, "The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases", 2001, 8ª edición, 2717-2751). Los trastornos en el metabolismo de apoB-100 que se corresponden con un mayor riesgo de CHD, también se observan en la diabetes y la obesidad (Grundy, *Am. J. Cardiol.*, 1998, 81, 18B-25B; Chan et al., *Diabetes*, 2002, 51, 2377-2386; Chan et al., *Metabolism*, 2002, 51, 1041-1046). Además, estudios genéticos en modelos de ratón han mostrado una correlación entre apolipoproteína B elevada, niveles elevados de colesterol y aterosclerosis (Kim y Young, *J. Lipid Res.*, 1998, 39, 703-723; Nishina et al., *J. Lipid Res.*, 1990, 31, 859-869).

En estudios de pacientes con hipobetalipoproteinemia familiar (FHBL), estos pacientes presentan niveles séricos reducidos de apolipoproteína B, niveles séricos disminuidos de colesterol LDL y una menor incidencia de la enfermedad arterial coronaria (Schonfeld et al., *J. Lipid Res.*, 2003, 44, 878-883). Estudios en muridos han mostrado que ratones que tienen deficiencias heterocigotas en la apolipoproteína B, muestran niveles séricos reducidos de colesterol LDL y apolipoproteína B, y, además, están protegidos de la hipercolesterolemia inducida por dieta. (Farese et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1995, 92, 1774-1778).

Los documentos WO 2004/044181, WO 03/097662 y WO 03/011887 describen oligonucleótidos complementarios (antisentido) dirigidos a la apolipoproteína B.

Compendio de la invención

La presente invención proporciona un oligonucleótido con la secuencia de bases nucleicas GCCTCAGTCTGCTTCGCACC (SEQ ID NO:2) que inhibe la expresión de la apolipoproteína B, para uso en la reducción de los niveles de partículas pequeñas de LDL en un sujeto humano que muestra un nivel elevado de partículas pequeñas de LDL, en donde el nivel total de colesterol LDL en dicho sujeto no es elevado.

En ciertas realizaciones, el oligonucleótido de la invención es un oligonucleótido quimérico con una longitud de 20 nucleótidos, compuesto de una región central interna "gap" que consiste en diez 2'-desoxinucleótidos, que está flanqueada en ambos lados (direcciones 5' y 3') por "alas" de cinco nucleótidos, compuestas de 2'-O-metoxietil nucleótidos, en donde los enlaces internucleósidos son de tipo fosforotioato a lo largo del oligonucleótido, y en donde todos los residuos de citidina son 5-metilcitidinas.

Compendio de la descripción

Algunas realizaciones de la presente descripción se describen en los siguientes párrafos numerados:

1. Un método para reducir los niveles de colesterol en suero en un sujeto humano, que comprende administrar a dicho sujeto una pluralidad de dosis de un oligonucleótido dirigido hacia la apolipoproteína B, en donde dicha administración da como resultado un área bajo la curva (AUC, de las siglas en inglés "area under curve") plasmática mínima desde aproximadamente 2 µg·h/mL a aproximadamente 20 µg·h/mL para el oligonucleótido en dicho sujeto humano.

2. El método del párrafo 1, en donde dicha administración da como resultado una AUC plasmática mínima desde aproximadamente 2 µg·h/mL a aproximadamente 10 µg·h/mL.

3. El método del párrafo 1, en el que dicha administración da como resultado una AUC plasmática mínima desde aproximadamente 4 µg·h/mL a aproximadamente 6 µg·h/mL.

4. El método del párrafo 1, en donde dicha administración da como resultado una AUC plasmática mínima de aproximadamente 5 µg·h/mL.

5. El método de los párrafos 1, 2, 3 o 4, en donde dicha AUC plasmática mínima se consigue a partir de aproximadamente 3 a aproximadamente 33 días después de la administración de una dosis de dicha pluralidad de dosis del oligonucleótido.

ES 2 401 114 T3

6. El método del párrafo 1, en donde dichos niveles de colesterol en suero se reducen en dicho sujeto humano en al menos aproximadamente el diez por ciento.
7. El método del párrafo 1, en donde dichos niveles de colesterol en suero se reducen en dicho sujeto humano en al menos aproximadamente el treinta por ciento.
- 5 8. El método del párrafo 1, en donde dichos niveles de colesterol en suero son niveles de colesterol de lipoproteína de baja densidad (LDL) en suero.
9. El método del párrafo 1, en donde dichos niveles de colesterol en suero son niveles de colesterol de lipoproteínas de suero de muy baja densidad (VLDL) séricas.
- 10 10. El método del párrafo 1, en donde dicho oligonucleótido comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2).
11. El método del párrafo 1, en el que al menos una dosis de dicha pluralidad de dosis se administra aproximadamente una vez a la semana.
12. El método del párrafo 1, en el que al menos una dosis de dicha pluralidad de dosis se administra aproximadamente una vez al mes.
- 15 13. El método del párrafo 1, en el que dicho sujeto humano padece hipercolesterolemia.
14. El método del párrafo 1, en el que cada dosis de dicha pluralidad de dosis comprende desde aproximadamente 50 mg a aproximadamente 400 mg del oligonucleótido.
15. El método del párrafo 1, en el que cada dosis de dicha pluralidad de dosis comprende aproximadamente 200 mg del oligonucleótido.
- 20 16. Un método para reducir los niveles de colesterol en suero en un sujeto humano, que comprende administrar a dicho sujeto una pluralidad de dosis de un oligonucleótido dirigido a la apolipoproteína B, en donde dicha administración da como resultado una concentración plasmática mínima desde aproximadamente 5 ng/dL a aproximadamente 40 ng/dL del oligonucleótido en dicho sujeto humano.
- 25 17. El método del párrafo 16, en el que dicha administración da como resultado una concentración plasmática mínima desde aproximadamente 5 ng/dL a aproximadamente 20 ng/dL.
18. El método de los párrafos 16 o 17, en el que dicha concentración plasmática mínima se consigue aproximadamente 7 días después de la administración de una dosis de dicha pluralidad de dosis del oligonucleótido.
19. El método del párrafo 16, en donde dichos niveles de colesterol en suero se reducen en dicho sujeto humano en al menos aproximadamente el diez por ciento.
- 30 20. El método del párrafo 16, en donde dichos niveles de colesterol en suero se reducen en dicho sujeto humano en al menos aproximadamente el treinta por ciento.
21. El método del párrafo 16, en donde dichos niveles de colesterol en suero son niveles de colesterol de lipoproteína de baja densidad (LDL) sérica.
- 35 22. El método del párrafo 16, en donde dichos niveles de colesterol son niveles de colesterol de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) séricas.
23. El método del párrafo 16, en donde dicho oligonucleótido comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2).
24. El método del párrafo 16, en el que al menos una dosis de dicha pluralidad de dosis se administra aproximadamente una vez a la semana.
- 40 25. El método del párrafo 16, en el que al menos una dosis de dicha pluralidad de dosis se administra aproximadamente una al mes.
26. El método del párrafo 16, en el que dicho sujeto humano padece hipercolesterolemia.
27. El método del párrafo 16, en el que cada dosis de dicha pluralidad de dosis comprende desde aproximadamente 50 mg a aproximadamente 400 mg del oligonucleótido.
- 45 28. El método del párrafo 16, en el que cada dosis de dicha pluralidad de dosis comprende aproximadamente 200 mg del oligonucleótido.
29. Un método para reducir el colesterol LDL en suero en un sujeto humano, que comprende administrar al sujeto humano una dosis de un oligonucleótido que comprende la secuencia de bases nucleicas

"GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2), suficiente para lograr una AUC plasmática mínima de al menos aproximadamente 2 µg·h/mL.

30. El método del párrafo 29, en el que dicha dosis es suficiente para lograr una AUC plasmática mínima en el intervalo de aproximadamente 20 µg·h/mL a aproximadamente 20 µg·h/mL.

5 31. El método de los párrafos 29 o 30, en el que dicha AUC plasmática mínima se consigue a partir desde aproximadamente 3 hasta aproximadamente 33 días después de la administración de dicha dosis del oligonucleótido.

32. El método del párrafo 31, en el que dicha dosis se administra aproximadamente una vez por semana, aproximadamente una vez al mes o aproximadamente una vez cada tres meses.

10 33. Un método para reducir el colesterol LDL en suero en un sujeto humano, que comprende administrar al sujeto humano una dosis de un oligonucleótido que comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2), suficiente para lograr una concentración plasmática mínima de al menos aproximadamente 5 ng/dL.

15 34. El método del párrafo 33, en el que dicha dosis es suficiente para alcanzar una concentración plasmática mínima en el intervalo de aproximadamente 5 ng/dL a aproximadamente 40 ng/dL.

35. El método de los párrafos 33 o 34, en el que dicha concentración plasmática mínima se consigue aproximadamente 7 días después de la administración de dicha dosis del oligonucleótido.

36. El método del párrafo 33, en el que dicha dosis se administra aproximadamente una vez por semana, aproximadamente una vez al mes o aproximadamente una vez cada tres meses.

20 37. Un método para reducir el colesterol LDL en suero en un sujeto humano, que comprende administrar al sujeto humano una dosis de un oligonucleótido que comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2), suficiente para lograr una concentración hepática estimada de al menos aproximadamente 10 µg/g.

25 38. El método del párrafo 37, en el que dicha dosis es suficiente para alcanzar una concentración estimada en el hígado en el intervalo de aproximadamente 10 µg/g a aproximadamente 150 µg/g.

39. El método del párrafo 37, en el que dicha dosis se administra aproximadamente una vez por semana, aproximadamente una vez al mes o aproximadamente una vez cada tres meses.

30 40. Un método para reducir el colesterol LDL en suero en un sujeto humano que comprende administrar a dicho sujeto humano un oligonucleótido que comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2), en donde dicho oligonucleótido se administra durante un periodo de carga y un periodo de mantenimiento.

41. El método del párrafo 40, en el que dicho oligonucleótido tiene una longitud de 20 a 30 bases nucleicas.

42. El método del párrafo 40, en el que el período de carga comprende administrar el oligonucleótido al sujeto humano una vez al día hasta 10 días.

35 43. El método del párrafo 42, en el que el oligonucleótido durante el período de carga se administra por vía intravenosa o subcutánea.

44. El método del párrafo 40, en el que el período de mantenimiento comprende administrar el oligonucleótido al menos una vez aproximadamente cada 3 meses.

40 45. El método del párrafo 44, en el que el oligonucleótido durante el período de mantenimiento se administra una vez aproximadamente cada mes.

46. El método del párrafo 44, en el que el oligonucleótido se administra una vez aproximadamente cada 2 semanas.

47. El método del párrafo 44, en el que el oligonucleótido se administra una vez aproximadamente cada 7 días.

45 48. El método del párrafo 44, en el que el oligonucleótido durante el período de mantenimiento se administra por vía subcutánea.

49. El método del párrafo 42 o 44, en el que se administra una dosis desde aproximadamente 0,1 mg/kg/día a aproximadamente 5 mg/kg/día.

50. El método del párrafo 49, en el que la dosis es desde aproximadamente 0,1 mg/kg/día a aproximadamente 1,2 mg/kg/día.

ES 2 401 114 T3

51. El método del párrafo 42 o 44, en donde la dosis es desde aproximadamente 50 mg por semana a aproximadamente 600 mg por semana.
52. El método del párrafo 51, en el que la dosis es de aproximadamente 50 mg por semana.
53. El método del párrafo 51, en el que la dosis es de aproximadamente 100 mg por semana.
- 5 54. El método del párrafo 51, en el que la dosis es de aproximadamente 200 mg por semana.
55. El método del párrafo 51, en el que la dosis es de aproximadamente 400 mg por semana.
56. El método del párrafo 40, en el que dicho oligonucleótido comprende ISIS 301012.
57. El método del párrafo 40, en el que dicho método da como resultado una reducción del colesterol VLDL sérico, los triglicéridos séricos, la lipoproteína (a) sérica o cualquier combinación de colesterol VLDL, triglicéridos séricos y lipoproteína (a) sérica.
- 10 58. El método del párrafo 40, en el que dicho sujeto humano muestra al menos una indicación seleccionada entre el grupo que consiste en: un nivel elevado de colesterol total en suero, un nivel elevado de colesterol LDL en suero, una proporción de colesterol total:HDL elevada y una proporción LDL:HDL elevada.
59. El método del párrafo 40, en el que dicho sujeto humano ha padecido o padece hipercolesterolemia familiar homocigótica o hipercolesterolemia familiar heterocigótica.
- 15 60. El método del párrafo 40, en el que dicho sujeto humano ha padecido, padece o tiene un alto riesgo de hipercolesterolemia no familiar.
61. El método del párrafo 40, en el que el sujeto humano tiene niveles de colesterol LDL en suero superiores a aproximadamente 70 mg/dL, antes de la administración de dicho oligonucleótido.
- 20 62. El método del párrafo 40, en el que el sujeto humano tiene niveles de colesterol LDL en suero superiores a aproximadamente 100 mg/dL, antes de la administración de dicho oligonucleótido.
63. El método del párrafo 40, en el que el sujeto humano tiene niveles de colesterol LDL en suero superiores a aproximadamente 130 mg/dL, antes de la administración de dicho oligonucleótido.
- 25 64. El método del párrafo 61, 62 o 63, en el que la administración de dicho oligonucleótido reduce los niveles séricos de colesterol LDL en el sujeto humano a menos de aproximadamente 70 mg/dL.
65. El método del párrafo 62 o 63, en el que la administración de dicho oligonucleótido reduce los niveles séricos de colesterol LDL en el sujeto humano a menos de aproximadamente 100 mg/dL.
66. El método del párrafo 63, en el que la administración de dicho oligonucleótido reduce los niveles séricos de colesterol LDL en el sujeto humano a menos de aproximadamente 130 mg/dL.
- 30 67. Un método para reducir los niveles de colesterol sérico en un sujeto humano, que comprende la selección de un sujeto humano tratado previamente sin éxito con una estatina; y la administración a dicho sujeto humano de un oligonucleótido que comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2).
- 35 68. El método del párrafo 67, en el que dichos niveles séricos de colesterol comprenden niveles séricos de colesterol LDL.
69. El método del párrafo 67, en el que el sujeto humano es intolerante a una estatina.
70. El método del párrafo 67, en el que el sujeto ha experimentado efectos adversos como resultado del tratamiento con dicha estatina.
- 40 71. El método del párrafo 70, en el que el sujeto ha experimentado miopatía, fatiga, efectos sobre el Sistema Nervioso Central (SNC) como resultado del tratamiento con dicha estatina, o cualquier combinación de miopatía, fatiga y efectos sobre el SNC, como resultado del tratamiento con dicha estatina.
72. El método del párrafo 67, en el que el sujeto humano tiene una actividad insuficiente del receptor de LDL.
73. El método del párrafo 67, en el que dicho oligonucleótido comprende ISIS 301012.
- 45 74. Un método para usar un oligonucleótido que comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2) en un tratamiento para reducir el colesterol LDL en suero en un sujeto humano, comprendiendo dicho método informar a dicho sujeto humano de que la administración de dicho oligonucleótido da como resultado una AUC plasmática mínima de al menos aproximadamente 2 µg·h/mL.

75. El método del párrafo 74, en el que dicho sujeto humano está informado de que la administración de dicho oligonucleótido da como resultado una AUC plasmática mínima en el intervalo de aproximadamente 2 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ a aproximadamente 20 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$.
- 5 76. El método de los párrafos 74 o 75, en el que dicha AUC plasmática mínima se consigue a partir desde aproximadamente 3 hasta aproximadamente 33 días después de la administración de dicha dosis del oligonucleótido.
77. El método del párrafo 74, en el que informar a dicho sujeto humano comprende proporcionar material impreso en el que se notifica que la administración de dicho oligonucleótido da como resultado una AUC plasmática mínima de al menos aproximadamente 2 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$.
- 10 78. El método del párrafo 77, en el que dicho material impreso es una etiqueta.
79. Un método para usar un oligonucleótido que comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2) en un tratamiento para reducir el colesterol LDL en suero en un sujeto humano, comprendiendo dicho método informar a dicho sujeto humano de que la administración de dicho oligonucleótido da como resultado una concentración plasmática mínima de al menos aproximadamente 5 ng/dL.
- 15 80. El método del párrafo 79, en el que dicho sujeto humano está informado de que la administración de dicho oligonucleótido da como resultado una concentración plasmática mínima en el intervalo de aproximadamente 5 ng/dL a aproximadamente 40 ng/dL.
81. El método de los párrafos 79 o 80, en el que dicha concentración plasmática mínima se consigue aproximadamente 7 días después de la administración de dicha dosis del oligonucleótido.
- 20 82. El método del párrafo 79, en el que informar a dicho sujeto humano comprende proporcionar material impreso en el que se notifica que la administración de dicho oligonucleótido da como resultado una concentración plasmática mínima de al menos aproximadamente 5 ng/mL.
83. El método del párrafo 82, en el que dicho material impreso es una etiqueta.
- 25 84. Un método para usar un oligonucleótido que comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2) en un tratamiento para reducir el colesterol LDL en suero en un sujeto humano, comprendiendo dicho método informar a dicho sujeto humano de que la administración de dicho oligonucleótido da como resultado una concentración hepática estimada de dicho oligonucleótido de al menos aproximadamente 10 $\mu\text{g}/\text{g}$.
- 30 85. El método del párrafo 84, en el que dicho sujeto humano está informado de que la administración de dicho oligonucleótido da como resultado una concentración hepática estimada de dicho oligonucleótido en el intervalo de aproximadamente 10 $\mu\text{g}/\text{g}$ a aproximadamente 150 $\mu\text{g}/\text{g}$.
86. El método del párrafo 84, en el que informar a dicho sujeto humano comprende proporcionar material impreso que notifica que la administración de dicho oligonucleótido da como resultado una concentración hepática estimada de dicho oligonucleótido de al menos aproximadamente 10 $\mu\text{g}/\text{g}$.
- 35 87. El método del párrafo 86, en el que dicho material impreso es una etiqueta.
88. Una composición farmacéutica que comprende una o varias dosis de un oligonucleótido que tiene una longitud de 14 a 30 bases nucleicas y que se hibrida con una secuencia de ácido nucleico que codifica la apolipoproteína B, en donde cada una de dichas una o varias dosis está el intervalo de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 400 mg, y en donde la administración intravenosa a un sujeto humano de dicho oligonucleótido desde aproximadamente 0,7 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 5,9 mg/kg de peso corporal, es suficiente para lograr una AUC_{0-48} plasmática desde aproximadamente 11 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ a aproximadamente 148 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$.
- 40 89. La composición farmacéutica del párrafo 88, en donde la administración intravenosa a un sujeto humano de dicho oligonucleótido a aproximadamente 0,7 mg/kg de peso corporal, es suficiente para lograr una AUC_{0-48} plasmática de 11 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL} \pm 3 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$.
90. La composición farmacéutica del párrafo 88, en donde la administración intravenosa a un sujeto humano de dicho oligonucleótido a aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, es suficiente para lograr una AUC_{0-48} plasmática de 24 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL} \pm 3 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$.
- 45 91. La composición farmacéutica del párrafo 88, en donde la administración intravenosa a un sujeto humano de dicho oligonucleótido a aproximadamente 2,7 mg/kg de peso corporal, es suficiente para lograr una AUC_{0-48} plasmática de 68 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL} \pm 14 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$.
- 50

ES 2 401 114 T3

92. La composición farmacéutica del párrafo 88, en donde la administración intravenosa a un sujeto humano de dicho oligonucleótido a aproximadamente 5,9 mg/kg de peso corporal, es suficiente para lograr una AUC₀₋₄₈ plasmática de 148 µg·h/mL ± 14 µg·h/mL.
- 5 93. La composición farmacéutica de cualquiera de los párrafos 88 a 92, en donde dicho oligonucleótido se hibrida con una región de dicha secuencia de ácido nucleico que codifica la apolipoproteína B que comprende los nucleótidos 2920 a 3420 de SEQ ID NO: 1.
94. La composición farmacéutica de cualquiera de los párrafos 88 a 92, en donde dicho oligonucleótido se hibrida con una región de dicha secuencia de ácido nucleico que codifica la apolipoproteína B que comprende los nucleótidos 3230 a 3288 de SEQ ID NO: 1.
- 10 95. La composición farmacéutica de cualquiera de los párrafos 88 a 92, en donde dicho oligonucleótido comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2).
96. La composición farmacéutica del párrafo 95, en la que dicho oligonucleótido comprende ISIS 301012.
97. Una composición farmacéutica que comprende una o varias dosis de un oligonucleótido que tiene una longitud de 14 a 30 bases nucleicas y que se hibrida con una secuencia de ácido nucleico que codifica la apolipoproteína B, en donde cada una de dichas una o varias dosis está en el intervalo de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 400 mg, y en donde la administración subcutánea a un sujeto humano de dicho oligonucleótido desde aproximadamente 0,7 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 5,9 mg/kg de peso corporal, después de la administración de una o varias dosis de carga, es suficiente para lograr una AUC plasmática desde aproximadamente 19 µg·h/mL a aproximadamente 160 µg·h/mL.
- 15 98. La composición farmacéutica del párrafo 97, en donde la administración subcutánea a un sujeto humano de dicho oligonucleótido a aproximadamente 0,7 mg/kg de peso corporal, es suficiente para lograr una AUC plasmática de 19 µg·h/mL ± 9 µg·h/mL.
99. La composición farmacéutica del párrafo 97, en donde la administración subcutánea a un sujeto humano de dicho oligonucleótido a aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, es suficiente para lograr una AUC plasmática de 28 µg·h/mL ± 5 µg·h/mL.
- 25 100. La composición farmacéutica del párrafo 97, en donde la administración subcutánea a un sujeto humano de dicho oligonucleótido a aproximadamente 2,7 mg/kg de peso corporal, es suficiente para lograr una AUC plasmática de 63 µg·h/mL ± 13 µg·h/mL.
101. La composición farmacéutica del párrafo 97, en donde la administración subcutánea a un sujeto humano de dicho oligonucleótido a aproximadamente 5,9 mg/kg de peso corporal, es suficiente para lograr una AUC plasmática de 160 µg·h/mL.
- 30 102. La composición farmacéutica de cualquiera de los párrafos 97 a 101, en donde dicho oligonucleótido se hibrida con una región de dicha secuencia de ácido nucleico que codifica la apolipoproteína B que comprende los nucleótidos 2920 a 3420 de SEQ ID NO: 1.
- 35 103. La composición farmacéutica de cualquiera de los párrafos 97 a 101, en donde dicho oligonucleótido se hibrida con una región de dicha secuencia de ácido nucleico que codifica la apolipoproteína B que comprende los nucleótidos 3230 a 3288 de SEQ ID NO: 1.
104. La composición farmacéutica de cualquiera de los párrafos 97 a 101, en donde dicho oligonucleótido comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2).
- 40 105. La composición farmacéutica del párrafo 104, en la que dicho oligonucleótido comprende ISIS 301012.
106. Una composición farmacéutica que comprende una o varias dosis de un oligonucleótido que tiene una longitud de 14 a 30 bases nucleicas y que se hibrida con una secuencia de ácido nucleico que codifica la apolipoproteína B, en donde cada una de dichas una o varias dosis está en el intervalo de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 400 mg, y en donde la administración subcutánea a un sujeto humano de dicho oligonucleótido desde aproximadamente 0,7 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 5,9 mg/kg de peso corporal, después de la administración de una o varias dosis de carga, es suficiente para lograr una concentración plasmática mínima desde aproximadamente 2 ng/mL a aproximadamente 40 ng/mL.
- 45 107. La composición farmacéutica del párrafo 106, en la que dicho oligonucleótido se hibrida con una región de dicha secuencia de ácido nucleico que codifica la apolipoproteína B que comprende los nucleótidos 2920 a 3420 de SEQ ID NO: 1.
- 50 108. La composición farmacéutica del párrafo 106, en la que dicho oligonucleótido se hibrida con una región de dicha secuencia de ácido nucleico que codifica la apolipoproteína B que comprende los nucleótidos 3230 a 3288 de SEQ ID NO: 1.

109. La composición farmacéutica del párrafo 106, en la que dicho oligonucleótido comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2).
- 5 110. Una composición farmacéutica que comprende una o varias dosis de un oligonucleótido que tiene una longitud de 14 a 30 bases nucleicas y que se hibrida con una secuencia de ácido nucleico que codifica la apolipoproteína B, en donde cada una de dichas una o varias dosis está en el intervalo de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 400 mg, y en donde la administración subcutánea a un sujeto humano de dicho oligonucleótido desde aproximadamente 0,7 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 5,9 mg/kg de peso corporal, después de la administración de una o varias dosis de carga, es suficiente para lograr una biodisponibilidad de al menos aproximadamente 54%.
- 10 111. La composición farmacéutica del párrafo 110, en la que dicho oligonucleótido se hibrida con una región de dicha secuencia de ácido nucleico que codifica la apolipoproteína B que comprende los nucleótidos 2920 a 3420 de SEQ ID NO: 1.
- 15 112. La composición farmacéutica del párrafo 110, en la que dicho oligonucleótido se hibrida con una región de dicha secuencia de ácido nucleico que codifica la apolipoproteína B que comprende los nucleótidos 3230 a 3288 de SEQ ID NO: 1.
113. La composición farmacéutica del párrafo 110, en la que dicho oligonucleótido comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2).
- 20 114. Una composición farmacéutica que comprende una o varias dosis de un oligonucleótido que tiene una longitud de 14 a 30 bases nucleicas y que se hibrida con una secuencia de ácido nucleico que codifica la apolipoproteína B, en donde cada una de dichas una o varias dosis está en el intervalo de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 400 mg, y en donde la administración subcutánea a un sujeto humano de dicho oligonucleótido de aproximadamente 0,7 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 5,9 mg/kg de peso corporal, después de la administración de una o varias dosis de carga, es suficiente para lograr un $t_{1/2}$ de eliminación terminal desde aproximadamente 23 a aproximadamente 47 días.
- 25 115. La composición farmacéutica del párrafo 114, en la que la administración subcutánea a un sujeto humano de dicho oligonucleótido a aproximadamente 0,7 mg/kg de peso corporal, es suficiente para lograr un $t_{1/2}$ de eliminación terminal de aproximadamente 23 días \pm 1 día.
- 30 116. La composición farmacéutica del párrafo 114, en la que la administración subcutánea a un sujeto humano de dicho oligonucleótido a aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, es suficiente para lograr un $t_{1/2}$ de eliminación terminal de aproximadamente 27 días \pm 12 días.
117. La composición farmacéutica del párrafo 114, en la que la administración subcutánea a un sujeto humano de dicho oligonucleótido a aproximadamente 2,7 mg/kg de peso corporal, es suficiente para lograr un $t_{1/2}$ de eliminación terminal de aproximadamente 31 días \pm 11 días.
- 35 118. La composición farmacéutica del párrafo 114, en la que la administración subcutánea a un sujeto humano de dicho oligonucleótido a aproximadamente 5,9 mg/kg de peso corporal, es suficiente para lograr un $t_{1/2}$ de eliminación terminal de aproximadamente 47 días.
119. La composición farmacéutica de cualquiera de los párrafos 114 a 118, en donde dicho oligonucleótido se hibrida con una región de dicha secuencia de ácido nucleico que codifica la apolipoproteína B que comprende los nucleótidos 2920 a 3420 de SEQ ID NO: 1.
- 40 120. La composición farmacéutica de cualquiera de los párrafos 114 a 118, en donde dicho oligonucleótido se hibrida con una región de dicha secuencia de ácido nucleico que codifica la apolipoproteína B que comprende los nucleótidos 3230 a 3288 de SEQ ID NO: 1.
121. La composición farmacéutica de cualquiera de los párrafos 114 a 118, en donde dicho oligonucleótido comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2).
- 45 122. La composición farmacéutica del párrafo 121, en la que dicho oligonucleótido comprende ISIS 301012.
123. Una pluralidad de dosis de un oligonucleótido dirigido a la apolipoproteína B para reducir los niveles de colesterol en suero, en donde la administración de dicha pluralidad de dosis de dicho oligonucleótido da como resultado una AUC plasmática mínima para dicho oligonucleótido desde aproximadamente 2 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ a aproximadamente 20 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$.
- 50 124. La pluralidad de dosis del párrafo 123, en donde dicha administración da como resultado una AUC plasmática mínima desde aproximadamente 2 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ a aproximadamente 10 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$.
125. La pluralidad de dosis del párrafo 123, en donde dicha administración da como resultado una AUC plasmática mínima desde aproximadamente 4 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ a aproximadamente 6 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$.

126. La pluralidad de dosis del párrafo 123, en donde dicha administración da como resultado una AUC plasmática mínima de aproximadamente 5 µg·h/mL.
- 5 127. La pluralidad de dosis de los párrafos 123, 124, 125 o 126, en donde dicha AUC plasmática mínima se consigue a partir de aproximadamente 3 a aproximadamente 33 días después de la administración de una dosis de dicha pluralidad de dosis del oligonucleótido.
128. La pluralidad de dosis del párrafo 123, en donde dichos niveles séricos de colesterol se reducen al menos en un diez por ciento.
129. La pluralidad de dosis del párrafo 123, en donde dichos niveles séricos de colesterol se reducen al menos en un treinta por ciento.
- 10 130. La pluralidad de dosis del párrafo 123, en donde dichos niveles séricos de colesterol son niveles de colesterol LDL.
131. La pluralidad de dosis del párrafo 123, en donde dichos niveles séricos de colesterol son niveles de colesterol VLDL.
- 15 132. La pluralidad de dosis del párrafo 123, en donde dicho oligonucleótido comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2).
133. La pluralidad de dosis del párrafo 127, en donde la administración es aproximadamente una vez a la semana.
134. La pluralidad de dosis del párrafo 127, en donde la administración es aproximadamente una vez al mes.
- 20 135. La pluralidad de dosis del párrafo 127, en donde cada una de dicha pluralidad de dosis comprende desde aproximadamente 50 mg a aproximadamente 400 mg de dicho oligonucleótido.
136. La pluralidad de dosis del párrafo 127, en donde cada una de dicha pluralidad de dosis comprende aproximadamente 200 mg de dicho oligonucleótido.
- 25 137. Una pluralidad de dosis de un oligonucleótido dirigido a la apolipoproteína B para reducir los niveles de colesterol en suero, en donde la administración de dicha pluralidad de dosis de dicho oligonucleótido da como resultado una concentración plasmática mínima desde aproximadamente 5 ng/dL a aproximadamente 40 ng/dL.
138. La pluralidad de dosis del párrafo 137, en donde la administración da como resultado una concentración plasmática mínima desde aproximadamente 5 ng/dL a aproximadamente 20 ng/dL.
- 30 139. La pluralidad de dosis de los párrafos 137 o 138, en donde dicha concentración plasmática mínima se consigue aproximadamente 7 días después de la administración de una dosis de dicha pluralidad de dosis del oligonucleótido.
140. La pluralidad de dosis del párrafo 137, en donde dichos niveles séricos de colesterol se reducen al menos en un diez por ciento.
141. La pluralidad de dosis del párrafo 137, en donde dichos niveles séricos de colesterol se reducen al menos en un treinta por ciento.
- 35 142. La pluralidad de dosis del párrafo 137, en donde dichos niveles séricos de colesterol son niveles de colesterol LDL.
143. La pluralidad de dosis del párrafo 137, en donde dichos niveles séricos de colesterol son niveles de colesterol VLDL.
- 40 144. La pluralidad de dosis del párrafo 137, en donde dicho oligonucleótido comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2).
145. La pluralidad de dosis del párrafo 137, en donde la administración es aproximadamente una vez a la semana.
146. La pluralidad de dosis del párrafo 137, en donde la administración es aproximadamente una vez al mes.
- 45 147. La pluralidad de dosis del párrafo 137, en donde cada una de dicha pluralidad de dosis comprende desde aproximadamente 50 mg a aproximadamente 400 mg de dicho oligonucleótido.
148. La pluralidad de dosis del párrafo 137, en donde cada una de dicha pluralidad de dosis comprende aproximadamente 200 mg de dicho oligonucleótido.

149. Uso de una pluralidad de dosis de un oligonucleótido dirigido a la apolipoproteína B para la preparación de un medicamento para reducir los niveles de colesterol en suero, en el que la administración de dicho medicamento da como resultado una AUC plasmática mínima para dicho oligonucleótido desde aproximadamente 2 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ a aproximadamente 10 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$.
- 5 150. El uso del párrafo 149, en donde la administración de dicho medicamento da como resultado una AUC plasmática mínima desde aproximadamente 2 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ a aproximadamente 10 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$.
151. El uso del párrafo 149, en donde la administración de dicho medicamento da como resultado una AUC plasmática mínima desde aproximadamente 4 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ a aproximadamente 6 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$.
- 10 152. El uso del párrafo 149, en donde la administración de dicho medicamento da como resultado una AUC plasmática mínima de aproximadamente 5 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$.
153. El uso de los párrafos 149, 150, 151 o 152, en el que dicha AUC plasmática mínima se logra desde aproximadamente 3 a aproximadamente 33 días después de la administración de una dosis de dicho medicamento.
154. El uso del párrafo 149, en el que dichos niveles de colesterol en suero se reducen al menos en aproximadamente un diez por ciento.
- 15 155. El uso del párrafo 149, en el que dichos niveles de colesterol en suero se reducen al menos en aproximadamente un treinta por ciento.
156. El uso del párrafo 149, en el que dichos niveles de colesterol en suero son niveles de colesterol LDL en suero.
- 20 157. El uso del párrafo 149, en el que dichos niveles de colesterol en suero son niveles de colesterol VLDL en suero.
158. El uso del párrafo 149, en donde dicho oligonucleótido comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2).
159. El uso del párrafo 149, en el que dicha administración es aproximadamente una vez a la semana.
160. El uso del párrafo 149, en el que dicha administración es aproximadamente una vez al mes.
- 25 161. El uso del párrafo 149, en el que cada una de dicha pluralidad de dosis comprende desde aproximadamente 50 mg a aproximadamente 400 mg de dicho oligonucleótido.
162. El uso del párrafo 149, en el que cada una de dicha pluralidad de dosis comprende aproximadamente 200 mg de dicho oligonucleótido.
- 30 163. Uso de una pluralidad de dosis de un oligonucleótido dirigido a la apolipoproteína B para la preparación de un medicamento para reducir los niveles de colesterol en suero, en el que la administración de dicho medicamento da como resultado una concentración plasmática mínima de dicho oligonucleótido desde aproximadamente 5 ng/dL a aproximadamente 40 ng/dL.
164. El uso del párrafo 163, en el que la administración de dicho medicamento da como resultado una concentración plasmática mínima desde aproximadamente 5 ng/dL a aproximadamente 20 ng/dL.
- 35 165. El uso de los párrafos 163 o 164, en el que dicha concentración plasmática mínima se consigue aproximadamente 7 días después de la administración de una dosis de dicho medicamento.
166. El uso del párrafo 163, en el que dichos niveles de colesterol en suero se reducen al menos en aproximadamente un diez por ciento.
- 40 167. El uso del párrafo 163, en el que dichos niveles de colesterol en suero se reducen al menos en aproximadamente un treinta por ciento.
168. El uso del párrafo 163, en el que dichos niveles de colesterol en suero son niveles de colesterol LDL en suero.
169. El uso del párrafo 163, en el que dichos niveles de colesterol en suero son niveles de colesterol VLDL en suero.
- 45 170. El uso del párrafo 163, en donde dicho oligonucleótido comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2).
171. El uso del párrafo 163, en el que la administración es aproximadamente una vez a la semana.
172. El uso del párrafo 163, en el que la administración es aproximadamente una vez al mes.

173. El uso del párrafo 163, en el que cada una de dicha pluralidad de dosis comprende desde aproximadamente 50 mg a aproximadamente 400 mg de dicho oligonucleótido.
174. El uso del párrafo 163, en el que cada una de dicha pluralidad de dosis comprende aproximadamente 200 mg de dicho oligonucleótido.
- 5 175. Uso de un oligonucleótido que comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2) para la preparación de un medicamento para reducir el colesterol LDL en suero, en donde la administración de dicho medicamento es suficiente para conseguir una AUC plasmática mínima para dicho oligonucleótido de al menos aproximadamente 2 µg·h/mL.
- 10 176. El uso del párrafo 175, en el que dicha administración de dicho medicamento es suficiente para conseguir una AUC plasmática mínima en el intervalo desde aproximadamente 2 µg·h/mL a aproximadamente 20 µg·h/mL.
177. El uso de los párrafos 175 o 176, en el que dicha AUC plasmática mínima se consigue a partir de aproximadamente 3 a aproximadamente 33 días después de la administración de dicho medicamento.
178. El uso del párrafo 175, en el que la administración de dicho medicamento se produce aproximadamente una vez a la semana, aproximadamente una vez al mes o aproximadamente una vez cada tres meses.
- 15 179. Uso de un oligonucleótido que comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2) para la preparación de un medicamento para reducir el colesterol LDL en suero, en donde la administración de dicho medicamento es suficiente para conseguir una concentración plasmática mínima para dicho oligonucleótido de al menos aproximadamente 5 ng/mL.
- 20 180. El uso del párrafo 179, en el que dicha administración de dicho medicamento es suficiente para conseguir una concentración plasmática mínima en el intervalo de aproximadamente 5 ng/dL a aproximadamente 40 ng/dL.
181. El uso de los párrafos 179 o 180, en el que dicha concentración plasmática mínima se consigue aproximadamente 7 días después de la administración de dicho medicamento.
182. El uso del párrafo 179, en el que la administración de dicho medicamento se produce aproximadamente una vez a la semana, aproximadamente una vez al mes o aproximadamente una vez cada tres meses.
- 25 183. Uso de un oligonucleótido que comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2) para la preparación de un medicamento para reducir el colesterol LDL en suero, en donde la administración de dicho medicamento es suficiente para conseguir una concentración hepática estimada de al menos aproximadamente 10 µg/g.
- 30 184. El uso del párrafo 183, en el que dicha administración de dicho medicamento es suficiente para alcanzar una concentración hepática estimada en el intervalo de aproximadamente 10 µg/g a aproximadamente 150 µg/g.
185. El uso del párrafo 183, en el que la administración de dicho medicamento se produce aproximadamente una vez a la semana, aproximadamente una vez al mes o aproximadamente una vez cada tres meses.
- 35 186. Uso de un oligonucleótido que comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2) para la preparación de un medicamento para reducir el colesterol LDL en suero, en donde dicho medicamento se administra durante un periodo de carga y un periodo de mantenimiento.
187. El uso del párrafo 186, en el que dicho oligonucleótido tiene una longitud de 20 a 30 bases nucleicas.
188. El uso del párrafo 186, en el que el periodo de carga comprende administrar el medicamento una vez al día en un periodo hasta 10 días.
- 40 189. El uso del párrafo 188, en el que dicho medicamento se administra por vía intravenosa o subcutánea.
190. El uso del párrafo 186, en el que el periodo de mantenimiento comprende administrar el medicamento al menos una vez aproximadamente cada 3 meses.
191. El uso del párrafo 190, en el que el medicamento se administra una vez aproximadamente cada mes.
- 45 192. El uso del párrafo 190, en el que el medicamento se administra una vez aproximadamente cada 2 semanas.
193. El uso del párrafo 190, en el que el medicamento se administra una vez aproximadamente cada 7 días.
194. El uso del párrafo 190, en el que dicho medicamento se administra por vía intravenosa o subcutánea.
195. El uso de los párrafos 188 o 190, en el que el oligonucleótido presente en el medicamento se administra en una dosis desde aproximadamente 0,1 mg/kg/día a aproximadamente 5 mg/kg/día.

ES 2 401 114 T3

196. El uso del párrafo 195, en el que el oligonucleótido presente en el medicamento se administra en una dosis desde aproximadamente 0,1 mg/kg/día a aproximadamente 1,2 mg/kg/día.
197. El uso de los párrafos 188 o 190, en el que el oligonucleótido presente en el medicamento se administra en una dosis desde aproximadamente 50 mg por semana a aproximadamente 600 mg por semana.
- 5 198. El uso del párrafo 197, en el que el oligonucleótido presente en el medicamento se administra en una dosis de aproximadamente 50 mg por semana.
199. El uso del párrafo 197, en el que la dosis es de aproximadamente 100 mg por semana.
200. El uso del párrafo 197, en el que la dosis es de aproximadamente 200 mg por semana.
201. El uso del párrafo 197, en el que la dosis es de aproximadamente 400 mg por semana.
- 10 202. El uso del párrafo 186, en el que el oligonucleótido comprende ISIS 301012.
203. El uso del párrafo 186, en el que la administración del medicamento da como resultado una reducción del colesterol VLDL en suero, triglicéridos en suero, lipoproteína (a) en suero o cualquier combinación colesterol VLDL en suero, triglicéridos en suero y lipoproteína (a) en suero.
- 15 204. El uso del párrafo 186, en el que el medicamento se administra a un sujeto humano que muestra al menos una indicación seleccionada entre el grupo que consiste en un nivel elevado del colesterol total en suero, un nivel elevado del colesterol LDL en suero, una proporción de colesterol total:HDL elevada y una proporción LDL:HDL elevada.
205. El uso del párrafo 186, en el que el medicamento se administra a un sujeto humano que ha padecido o padece hipercolesterolemia familiar homocigótica o hipercolesterolemia familiar heterocigótica.
- 20 206. El uso del párrafo 186, en el que el medicamento se administra a un sujeto humano que ha padecido, padece o tiene un mayor riesgo de hipercolesterolemia no familiar.
207. El uso del párrafo 186, en donde el medicamento se administra a un sujeto humano que tiene niveles de colesterol LDL en suero, superiores a aproximadamente 70 mg/dL antes de la administración.
- 25 208. El uso del párrafo 186, en donde el medicamento se administra a un sujeto humano que tiene niveles de colesterol LDL en suero, superiores a aproximadamente 100 mg/dL antes de la administración.
209. El uso del párrafo 186, en donde el medicamento se administra a un sujeto humano que tiene niveles de colesterol LDL en suero, superiores a aproximadamente 130 mg/dL antes de la administración.
210. El uso de los párrafos 207, 208 o 209, en el que la administración de dicho medicamento reduce los niveles de colesterol LDL en suero a menos de aproximadamente 70 mg/dL.
- 30 211. El uso de los párrafos 208 o 209, en el que la administración de dicho medicamento reduce los niveles de colesterol LDL en suero a menos de aproximadamente 100 mg/dL.
212. El uso del párrafo 209, en el que la administración de dicho medicamento reduce los niveles séricos de colesterol LDL a menos de aproximadamente 130 mg/dL.
213. El método de los párrafos 29, 33, 37, 74, 79 o 84, en el que dicho oligonucleótido comprende ISIS 301012.
- 35 214. La composición farmacéutica de los párrafos 109 o 113, en la que dicho oligonucleótido comprende ISIS 301012.
215. La pluralidad de dosis de los párrafos 132 o 144, en la que dicho oligonucleótido comprende ISIS 301012.
216. El uso de los párrafos 158, 170, 175, 179, 183, 186, en el que dicho oligonucleótido comprende ISIS 301012.
- 40 También se describen en esta memoria métodos para reducir el colesterol en suero mediante la administración de un oligonucleótido dirigido a la apolipoproteína B, tal como el oligonucleótido antisentido ISIS 301012 y un segundo agente reductor de lípidos, en una dosis menor que la que sería necesaria para lograr un efecto terapéutico o profiláctico, si el segundo agente se administrara solo. Por ejemplo, los segundos agentes reductores de lípidos se pueden seleccionar entre el grupo que consiste en secuestrantes de ácidos biliares (por ejemplo, colestiramina, colestípol y clorhidrato de colesevelam), fibratos (por ejemplo, clofibrato, gemfibrozil, fenofibrato, bezafibrato y ciprofibrato), niacina, estatinas (por ejemplo, lovastatina, prevastatin, atorvastatina, simvastatina y fluvastatina), e inhibidores de la absorción de colesterol (por ejemplo, ezetimiba).
- 45

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un gráfico de líneas que muestra el porcentaje de cambio desde el valor de referencia de la apolipoproteína B (ApoB-100), el colesterol LDL (LDL) en suero y el colesterol total en suero, en relación con los niveles de AUC plasmática mínima en sujetos humanos, aproximadamente 3 días después de la finalización del período de tratamiento con dosis múltiples (MD25), descrito en el Ejemplo 3.

Descripción detallada de la invención

En esta memoria se describen composiciones y métodos para reducir los niveles de colesterol LDL en el suero de un humano que padece o tiene riesgo de padecer hipercolesterolemia, mediante la administración al ser humano de un oligonucleótido dirigido a la apolipoproteína B. Tal y como se usa en la presente memoria "dirigido" o "dirigido a" se refiere a un oligonucleótido capaz de hibridarse con una molécula de ácido nucleico seleccionada o una región de una molécula de ácido nucleico. Tal hibridación de un oligonucleótido con su ácido nucleico diana modula (inhibe o estimula) la función normal del ácido nucleico a través de un mecanismo conocido generalmente conocido como "antisentido". En una realización, el oligonucleótido comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2). En otras realizaciones, el oligonucleótido es ISIS 301012. Se descubrió que el oligonucleótido ISIS 301012 era eficaz para reducir el nivel de apolipoproteína B en suero y colesterol LDL en suero en seres humanos, durante un período de tiempo prolongado, después de la administración. Por ejemplo, el tratamiento de seres humanos con ISIS 301012 condujo a niveles reducidos de colesterol LDL y apolipoproteína B durante varias semanas después del cese del tratamiento. Por esta razón, ISIS 301012 proporciona un efecto prolongado sobre la hipercolesterolemia, y por lo tanto es una herramienta útil para el tratamiento de esta enfermedad.

Una realización adicional de la descripción se refiere a la administración de un oligonucleótido dirigido a la apolipoproteína B en un sujeto humano, de modo que la AUC plasmática mínima esté entre aproximadamente 2 a 20 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, 2 a 10 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ o 2 a 7 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$. En una realización, el oligonucleótido se administra de modo que la AUC plasmática mínima sea de aproximadamente 4 a 6 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$. En aún otra realización, el oligonucleótido se administra de modo que la AUC plasmática mínima sea de aproximadamente 2 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 3 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 4 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 5 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 6 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 7 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 8 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 9 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 10 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 11 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 12 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 13 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 14 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 15 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 16 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 17 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 18 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 19 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ o aproximadamente 20 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$. En una realización, el sujeto se trata con dosis de mantenimiento semanales de 200 mg, del oligonucleótido, y el oligonucleótido es ISIS 301012. En otras realizaciones, el sujeto se trata solo una vez al mes con una concentración del oligonucleótido que se selecciona para dar lugar a la deseada AUC plasmática mínima. Alternativamente, el sujeto se puede tratar solo una vez cada dos meses, o incluso cada tres meses, con una concentración del oligonucleótido que se selecciona para dar lugar a la deseada AUC plasmática mínima.

Otra realización de la descripción se refiere al uso de ISIS 301012 como un tratamiento para un ser humano que padece, o que tiene un mayor riesgo de hipercolesterolemia, en donde el oligonucleótido ISIS 301012 se administra durante un período de carga y un período de mantenimiento. Las dosis durante el período de carga son típicamente más altas, o más frecuentes, que durante el período de mantenimiento, y la cantidad y la frecuencia de la dosificación se seleccionan de modo que los niveles tisulares hepáticos de ISIS 301012 se aproximen a los niveles tisulares que proporcionan beneficios terapéuticos. Las concentraciones plasmáticas mínimas de oligonucleótido están en equilibrio con las concentraciones tisulares de fármaco y, por lo tanto, se utilizan como una representación de las concentraciones tisulares hepáticas. Por ejemplo, una dosis de 200 mg de ISIS 301012 administrada por vía intravenosa 3 veces durante un período de carga de 1 semana, alcanzó una concentración plasmática mínima de aproximadamente 18 ng/dL. Se observaron reducciones del colesterol LDL en suero, colesterol total en suero y apolipoproteína B en suero. Las dosis durante el período de mantenimiento son típicamente menores o menos frecuentes que durante el período de carga, y se administran una vez a la semana, una vez cada 2 semanas, una vez al mes o una vez cada 3 meses. Esta dosis puede ser igual o menor que la dosis administrada durante el período de carga. Por ejemplo, una dosis de 200 mg de ISIS 301012 se puede administrar una vez a la semana durante el período de mantenimiento.

Tal como se utiliza en la presente memoria, un oligonucleótido puede proporcionar un beneficio terapéutico a un sujeto humano, cuando se encuentra una reducción de al menos 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90% de los niveles de apolipoproteína B sérica o de colesterol LDL sérico. Sin embargo, cualquier reducción en los niveles de apolipoproteína B o de colesterol LDL en suero puede ser terapéuticamente beneficiosa para un sujeto, por lo que los porcentajes de reducción antes mencionados son ilustrativos y no limitativos, en las realizaciones de la invención. Un oligonucleótido puede proporcionar un beneficio terapéutico a un sujeto humano cuando el nivel de colesterol LDL en suero se reduce a aproximadamente 70 mg/dL o menos, a aproximadamente 100 mg/dL o menos, o a aproximadamente 130 mg/dL o menos.

Tal y como se usa en esta memoria, "que padece hipercolesterolemia" se refiere a un sujeto humano que tiene niveles de colesterol LDL o de colesterol total superiores a los niveles recomendados de colesterol LDL o colesterol total, según lo establecido por el "National Cholesterol Education Panel". Tal y como se usa en la presente memoria, "con riesgo de hipercolesterolemia" se refiere a un sujeto humano que muestra uno o varios factores de riesgo de padecer cardiopatía coronaria, tal como, por ejemplo, los factores de riesgo definidos por el "National Cholesterol Education Panel". Tal y como se usa en la presente memoria, "que lo requiere" es intercambiable con "que padece hipercolesterolemia" o "con riesgo de padecer hipercolesterolemia". "Sujeto" y "sujeto humano" se usan en esta memoria de manera intercambiable.

Otra realización de la descripción se refiere a reducir el nivel de lipoproteínas que contienen apolipoproteína B en un sujeto humano. Tal y como se usa en la presente memoria, "lipoproteína que contiene apolipoproteína B" se refiere a cualquier lipoproteína que tiene apolipoproteína B como componente proteico, y se entiende que incluye LDL, VLDL, IDL y lipoproteína (a). LDL, VLDL, IDL y lipoproteína (a) contienen cada una molécula de apolipoproteína B, con lo que una medición de la apolipoproteína B en suero refleja el número total de estas lipoproteínas. Como es conocido en la técnica, cada una de las lipoproteínas mencionadas anteriormente es aterogénica. Por lo tanto, la reducción de una o varias lipoproteínas que contienen apolipoproteína B en suero, puede proporcionar un beneficio terapéutico a un sujeto humano. Pequeñas partículas de LDL se considera que son particularmente aterogénicas, en comparación con partículas grandes de LDL, por lo que la disminución de las partículas de LDL pequeñas puede proporcionar un beneficio terapéutico a un sujeto humano. Tras el tratamiento con ISIS 301012, se encontró que los niveles séricos de partículas de LDL pequeñas, colesterol VLDL o lipoproteína (a) se habían reducido en los seres humanos.

Otra realización de la descripción se refiere a la reducción de parámetros lipídicos adicionales en un sujeto. Tras el tratamiento con ISIS 301012, se encontró que los triglicéridos en suero, la proporción de LDL:HDL o la proporción de colesterol total:HDL se habían reducido en los seres humanos. La reducción de la proporción de colesterol total:HDL o LDL:HDL es una mejora clínicamente deseable en la proporción de colesterol. Del mismo modo, es deseable clínicamente reducir los triglicéridos séricos humanos que muestran niveles de lípidos elevados.

También se describen en esta memoria métodos para reducir el colesterol LDL en suero en un ser humano mediante la administración de una dosis de un oligonucleótido que inhibe la expresión de la apolipoproteína B. En esta realización, el oligonucleótido se administra en una dosis que proporciona una concentración mínima predeterminada en el plasma del ser humano, en donde la concentración plasmática mínima da como resultado un nivel sérico menor de colesterol LDL. En una realización, la concentración plasmática mínima está en el intervalo de aproximadamente 5 ng/dL a aproximadamente 40 ng/dL. En una realización, el oligonucleótido es SEQ ID NO: 2. Preferiblemente, el nivel de colesterol LDL en suero disminuido proporciona un beneficio terapéutico al ser humano. Esta realización abarca la reducción de parámetros lipídicos adicionales, tales como el colesterol total en suero, las partículas de LDL pequeñas en suero, los triglicéridos en suero, la lipoproteína (a) en suero y el colesterol VLDL en suero.

En otra realización, el oligonucleótido se administra en una dosis que proporciona una concentración predeterminada en el plasma del ser humano, en donde la concentración plasmática mínima predeterminada se mide como "área bajo la curva" (AUC) mínima plasmática, tal y como se detalla más en su totalidad más abajo, y en donde la AUC plasmática mínima predeterminada da como resultado un nivel más bajo de colesterol LDL en suero. Dicha AUC plasmática mínima está en el intervalo de aproximadamente 2 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ a aproximadamente 20 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$. En una realización, el oligonucleótido es SEQ ID NO: 2. Esta realización abarca la reducción de parámetros lipídicos adicionales, tales como las partículas pequeñas de LDL en suero, el colesterol total en suero, los triglicéridos en suero, la lipoproteína (a) en suero y el colesterol VLDL en suero.

Todavía otras realizaciones de la presente descripción se refieren a una pluralidad de dosis, o a una o varias composiciones farmacéuticas que comprenden una pluralidad de dosis de un oligonucleótido dirigido hacia la apolipoproteína B para reducir los niveles de colesterol en el suero. En ciertas realizaciones, el colesterol en suero es colesterol LDL en suero o colesterol VLDL en suero. La administración de tal pluralidad de dosis a un sujeto, tal como un ser humano, da como resultado una AUC plasmática mínima para el oligonucleótido desde aproximadamente 2 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ a aproximadamente 20 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 2 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ a aproximadamente 10 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ y aproximadamente 4 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ a aproximadamente 6 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$. En otras realizaciones, la AUC plasmática mínima es de aproximadamente 5 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$. En aún otras realizaciones, la administración de la pluralidad de dosis da como resultado una AUC plasmática mínima para el oligonucleótido de aproximadamente 2 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 3 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 4 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 5 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 6 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 7 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 8 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 9 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 10 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 11 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 12 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 13 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 14 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 15 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 16 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 17 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 18 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 19 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ o aproximadamente 20 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$. En cualquiera de las realizaciones anteriores, la AUC plasmática mínima se consigue desde aproximadamente 3 a aproximadamente 33 días después de la administración de al menos una dosis de la pluralidad de dosis del oligonucleótido. En algunas realizaciones, el colesterol sérico es colesterol LDL sérico. En algunas realizaciones preferidas, el oligonucleótido utilizado en la pluralidad de dosis es SEQ ID NO: 2.

En ciertas otras realizaciones, la administración de una pluralidad de dosis de un oligonucleótido dirigido a una apolipoproteína B da como resultado una concentración plasmática mínima desde aproximadamente 5 ng/dL a aproximadamente 40 ng/dL, mientras que en otras realizaciones la concentración plasmática mínima es de aproximadamente 5 ng/dL a aproximadamente 20 ng/dL. En aún otras realizaciones, la concentración plasmática mínima es de aproximadamente 5 ng/dL, aproximadamente 6 ng/dL, aproximadamente 7 ng/dL, aproximadamente 8 ng/dL, aproximadamente 9 ng/dL, aproximadamente 10 ng/dL, aproximadamente 11 ng/dL, aproximadamente 12 ng/dL, aproximadamente 13 ng/dL, aproximadamente 14 ng/dL, aproximadamente 15 ng/dL, aproximadamente 16 ng/dL, aproximadamente 17 ng/dL, aproximadamente 18 ng/dL, aproximadamente 19 ng/dL, aproximadamente 20 ng/dL, aproximadamente 21 ng/dL, aproximadamente 22 ng/dL, aproximadamente 23 ng/dL, aproximadamente 24 ng/dL, aproximadamente 25 ng/dL, aproximadamente 26 ng/dL, aproximadamente 27 ng/dL, aproximadamente 28 ng/dL, aproximadamente 29 ng/dL, aproximadamente 30 ng/dL, aproximadamente 31 ng/dL, aproximadamente 32 ng/dL, aproximadamente 33 ng/dL, aproximadamente 34 ng/dL, aproximadamente 35 ng/dL, aproximadamente 36 ng/dL, aproximadamente 37 ng/dL, aproximadamente 38 ng/dL, aproximadamente 39 ng/dL o aproximadamente 40 ng/dL. En tales realizaciones, la concentración plasmática mínima se consigue aproximadamente 7 días después de la administración de al menos una dosis de la pluralidad de dosis del oligonucleótido. En algunas realizaciones preferidas, el oligonucleótido utilizado en la pluralidad de dosis es SEQ ID NO: 2.

Las realizaciones descritas en este documento también se refieren al uso de una pluralidad de dosis de un oligonucleótido dirigido a la apolipoproteína B, para la preparación de un medicamento para reducir los niveles de colesterol en suero. La administración de tal medicamento a un sujeto, tal como un ser humano, da como resultado una AUC plasmática mínima para el oligonucleótido desde aproximadamente 2 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ a aproximadamente 20 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 2 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ a aproximadamente 10 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ y aproximadamente 4 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ a aproximadamente 6 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$. En otras realizaciones, la AUC plasmática mínima es de aproximadamente 5 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$. En aún otras realizaciones, la administración del medicamento da como resultado una AUC plasmática mínima para el oligonucleótido de aproximadamente 2 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 3 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 4 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 5 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 6 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 7 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 8 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 9 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 10 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 11 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 12 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 13 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 14 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 15 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 16 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 17 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 18 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, aproximadamente 19 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ o aproximadamente 20 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$. En cualquiera de las realizaciones anteriores, la AUC plasmática mínima se consigue a partir de aproximadamente 3 a aproximadamente 33 días después de la administración del medicamento que contiene el oligonucleótido. En algunas realizaciones preferidas, el oligonucleótido utilizado en la preparación del medicamento es SEQ ID NO: 2.

En ciertas otras realizaciones, la administración de una pluralidad de dosis de un oligonucleótido dirigido a una apolipoproteína B da como resultado una concentración plasmática mínima desde aproximadamente 5 ng/dL a aproximadamente 40 ng/dL, mientras que en otras realizaciones la concentración plasmática mínima es desde aproximadamente 5 ng/dL a aproximadamente 20 ng/dL. En aún otras realizaciones, la concentración plasmática mínima es de aproximadamente 5 ng/dL, aproximadamente 6 ng/dL, aproximadamente 7 ng/dL, aproximadamente 8 ng/dL, aproximadamente 9 ng/dL, aproximadamente 10 ng/dL, aproximadamente 11 ng/dL, aproximadamente 12 ng/dL, aproximadamente 13 ng/dL, aproximadamente 14 ng/dL, aproximadamente 15 ng/dL, aproximadamente 16 ng/dL, aproximadamente 17 ng/dL, aproximadamente 18 ng/dL, aproximadamente 19 ng/dL, aproximadamente 20 ng/dL, aproximadamente 21 ng/dL, aproximadamente 22 ng/dL, aproximadamente 23 ng/dL, aproximadamente 24 ng/dL, aproximadamente 25 ng/dL, aproximadamente 26 ng/dL, aproximadamente 27 ng/dL, aproximadamente 28 ng/dL, aproximadamente 29 ng/dL, aproximadamente 30 ng/dL, aproximadamente 31 ng/dL, aproximadamente 32 ng/dL, aproximadamente 33 ng/dL, aproximadamente 34 ng/dL, aproximadamente 35 ng/dL, aproximadamente 36 ng/dL, aproximadamente 37 ng/dL, aproximadamente 38 ng/dL, aproximadamente 39 ng/dL o aproximadamente 40 ng/dL. En tales realizaciones, la concentración plasmática mínima se consigue aproximadamente 7 días después de la administración del medicamento que contiene el oligonucleótido. En algunas realizaciones preferidas, el oligonucleótido utilizado en la preparación del medicamento es SEQ ID NO: 2.

También se describe en esta memoria la utilización del oligonucleótido de SEQ ID NO: 2 para la preparación de un medicamento para reducir el colesterol LDL en suero, en donde la administración del medicamento es suficiente para lograr una o una combinación de las propiedades farmacocinéticas siguientes: una AUC plasmática mínima de al menos aproximadamente 2 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, una concentración plasmática mínima de al menos aproximadamente 5 ng/dL o una concentración hepática estimada de al menos aproximadamente 10 $\mu\text{g}/\text{g}$ de hígado.

Realizaciones adicionales descritas en este documento se refieren al uso de un oligonucleótido que comprende SEQ ID NO: 2 para la preparación de un medicamento para reducir el colesterol LDL en suero, en donde el medicamento se administra durante un periodo de carga y un periodo de mantenimiento. Por ejemplo, en el periodo de carga, el medicamento se puede administrar aproximadamente 1 dosis al día hasta aproximadamente 10 días. El medicamento se puede administrar por vía intravenosa o subcutánea. En algunas realizaciones, el periodo de mantenimiento comprende administrar el medicamento al menos una vez cada 3 meses. Sin embargo, durante el mantenimiento, el medicamento se puede administrar más frecuentemente. Por ejemplo, el medicamento se puede administrar una vez aproximadamente cada mes, una vez aproximadamente cada dos semanas o una vez aproximadamente cada semana. Las dosis de mantenimiento del medicamento se pueden admi-

nistrar por vía intravenosa o subcutánea. En algunas realizaciones, las dosis de carga y/o las dosis de mantenimiento del medicamento se administran con una tasa de aproximadamente 0,1 mg/kg/día a aproximadamente 5 mg/kg/día. En ciertas realizaciones, la administración se produce con una tasa de aproximadamente 0,1 mg/kg/día a aproximadamente 1,2 mg/kg/día. En otras realizaciones, el medicamento se administra en una dosis de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 600 mg por semana.

En cualquiera de las realizaciones anteriores, el oligonucleótido que comprende SEQ ID NO: 2 puede ser ISIS 301012. ISIS 301012 se dirige al ARNm de la apolipoproteína B humana, y es un oligonucleótido quimérico ("gapmero") con una longitud de 20 nucleótidos, compuesto por una región central interna "gap" que consta de diez 2'-desoxinucleótidos, que está flanqueada en ambos lados (direcciones 5' y 3') por "alas" de cinco nucleótidos". Las alas están compuestas de 2'-O-metoxietil (2'-MOE) nucleótidos. Los enlaces internucleosídicos (cadena principal) son enlaces fosforotioato (P=S) a lo largo de todo el oligonucleótido. Todos los residuos de citidina son 5-metilcitidinas. ISIS 301012 se sintetiza utilizando los métodos descritos en el documento de Solicitud de Patente de EE.UU. nº de serie 10/712.795.

Oligonucleótidos

En el contexto de esta invención, el término "oligonucleótido" se refiere a un oligómero o un polímero de ácido ribonucleico (ARN) o ácido desoxirribonucleico (ADN) o miméticos de los mismos. Por tanto, este término incluye oligonucleótidos compuestos por bases nucleicas presentes en la naturaleza, azúcares y enlaces internucleosídicos covalentes (cadena principal) (ARN y ADN), así como oligonucleótidos que tienen porciones que no son de origen natural que actúan de manera similar (miméticos de oligonucleótidos). Los miméticos de oligonucleótidos se prefieren frecuentemente sobre las formas naturales debido a propiedades deseables tales como, por ejemplo, una captación celular mejorada, una mayor afinidad hacia el ácido nucleico diana y mayor estabilidad en presencia de nucleasas. Tal y como se utiliza en esta memoria, el término "modificación" incluye la sustitución y/o cualquier cambio de un oligonucleótido de partida o natural.

Tal y como se conoce en la técnica, un nucleósido es una combinación de base-azúcar. La porción de base del nucleósido es normalmente una base heterocíclica. Las dos clases más comunes de tales bases heterocíclicas son las purinas y las pirimidinas. Los nucleótidos son nucleósidos que incluyen además un grupo fosfato unido covalentemente a la porción de azúcar del nucleósido. Para aquellos nucleósidos que incluyen un azúcar pentofuranosilo, el grupo fosfato puede estar ligado con el resto 2', 3' o 5' hidroxilo del azúcar. En la formación de oligonucleótidos, los grupos fosfato de enlazan covalentemente con nucleósidos adyacentes entre sí, para formar un compuesto polimérico lineal. Dentro de la estructura del oligonucleótido, los grupos fosfato se conocen comúnmente como los que forman la cadena principal de internucleosídicos del oligonucleótido. El enlace normal o cadena principal de ARN y ADN es un enlace fosfodiéster 3' a 5'.

Los oligonucleótidos útiles en esta invención incluyen oligonucleótidos que contienen cadenas principales modificadas o enlaces internucleosídicos no naturales. Tal y como se usa en la presente memoria, un "oligonucleótido mimético" o un "mimético" se refiere a cualquier compuesto de la invención que está modificado a partir de ácidos nucleicos de ARN o ADN presentes en la naturaleza.

Tal y como se define en la presente memoria, los oligonucleótidos que tienen cadenas principales modificadas incluyen los que conservan un átomo de fósforo en la cadena principal y los que no tienen un átomo de fósforo en la cadena principal. A los efectos de esta memoria descriptiva, y a veces como referencia en la técnica, los oligonucleótidos modificados que no tienen un átomo de fósforo en su cadena principal internucleosídica, también se pueden considerar oligonucleosídicos. Las cadenas principales de oligonucleótidos modificados incluyen, por ejemplo, fosforotioatos. Los enlaces fosforotioato proporcionan estabilidad frente a nucleasas, así como características de unión a proteínas plasmáticas al oligonucleótido. La estabilidad frente a nucleasas es útil para aumentar la vida útil in vivo de los oligonucleótidos, mientras que la unión a proteínas plasmáticas disminuye la tasa de aclaramiento de primer paso del oligonucleótido a través de la excreción renal.

En otros miméticos de oligonucleótidos, el azúcar está modificado o sustituido con grupos nuevos. Las unidades de bases se mantienen para la hibridación con un compuesto diana de ácido nucleico apropiado. Las modificaciones del azúcar pueden impartir estabilidad frente a nucleasas, afinidad de la unión o alguna otra propiedad biológica beneficiosa para el oligonucleótido. Una modificación del azúcar este tipo incluye 2'-metoxietoxi (2'-O-CH₂CH₂OCH₃, también conocido como 2'-O-(2-metoxietil) o 2'-MOE) (Martin et al., *Helv. Chim. Acta*, 1995, 78, 486-504), es decir, un grupo alcoxiaco.

Los miméticos de oligonucleótidos también pueden incluir modificaciones o sustituciones de bases nucleicas (denominadas frecuentemente en la técnica simplemente como "bases"). Tal y como se emplea en la presente memoria, las bases nucleicas "no modificadas" o "naturales" incluyen las bases púricas adenina (A) y guanina (G), y las bases pirimidínicas timina (T), citosina (C) y uracilo (U). Las bases nucleicas modificadas incluyen otras bases nucleicas sintéticas y naturales tales como 5-metilcitosina (5-me-C). Ciertas sustituciones de bases nucleicas, incluyendo las sustituciones de 5-metilcitosina, son particularmente útiles para aumentar la afinidad de la unión de los oligonucleótidos de la invención. Por ejemplo, las sustituciones de 5-metilcitosina han mostrado que aumentan la estabilidad del ácido nucleico dúplex en 0,6-1,2°C (Sanghvi, Y.S., Crooke, S.T. y Lebleu, B., compiladores, "Antisense Research and Applications", CRC Press, Boca Raton, 1993, págs. 276-278) y son ac-

tualmente las sustituciones de bases preferidas, incluso más particularmente cuando se combinan con modificaciones de 2'-O-metoxietil azúcar.

5 No es necesario que todas las posiciones en un oligonucleótido o un oligonucleótido mimético dado estén modificadas uniformemente, y de hecho, una o varias de las modificaciones mencionadas anteriormente se pueden incorporar en un oligonucleótido aislado, o incluso en un nucleósido aislado dentro de un oligonucleótido.

10 Las realizaciones de la invención también incluyen oligonucleótidos o miméticos que son compuestos quiméricos. Oligonucleótidos "quiméricos" o "quimeras", en el contexto de esta invención, son compuestos, particularmente oligonucleótidos, que contienen al menos dos regiones químicamente distintas, cada una de ellas compuesta de al menos una unidad monomérica, es decir, un nucleótido en el caso de un oligonucleótido. Estos oligonucleótidos contienen típicamente al menos una región químicamente distinta en la que el oligonucleótido se modifica de modo que confiere al oligonucleótido una resistencia incrementada frente a la degradación con nucleasas, una mayor captación celular y/o un aumento de la afinidad de la unión con el ácido nucleico diana. Una región adicional químicamente distinta del oligonucleótido puede servir como sustrato para enzimas capaces de escindir ARN:ADN o híbridos de ARN:ARN. A modo de ejemplo, la ARNasa H es una endonucleasa celular que escinde la cadena de ARN de un dúplex de ARN:ADN. Modificaciones que activan, proporcionan o activan la ARNasa H y como resultado producen la escisión del ARN diana, mejoran de este modo en gran medida la eficacia del oligonucleótido para inhibir la expresión génica. En consecuencia, pueden obtenerse frecuentemente resultados comparables con oligonucleótidos más cortos cuando se utilizan oligonucleótidos quiméricos que incorporan modificaciones que facilitan la escisión del dúplex, en comparación con desoxioligonucleótidos de fosforotioato que se hibridan con la misma región diana. La escisión del ARN diana se puede detectar rutinariamente mediante electroforesis en gel y, si es necesario, técnicas asociadas de hibridación de ácidos nucleicos, conocidas en la técnica.

25 Los oligonucleótidos quiméricos de la invención se pueden formar como estructuras compuestas de dos o más oligonucleótidos, oligonucleótidos modificados, oligonucleósidos y/o miméticos de oligonucleótidos tal y como se ha descrito anteriormente. Los oligonucleótidos quiméricos pueden ser de varios tipos diferentes. Estos incluyen un primer tipo en el que el segmento "de la región interna" de los nucleósidos ligados se sitúa entre los segmentos 5' y 3' del "ala" de nucleósidos unidos y un segundo tipo de "extremo abierto" en donde el segmento "de la región interna" se encuentra en el extremo, ya sea 3' o 5' terminal del oligonucleótido quimérico. Los compuestos del primer tipo también se conocen en la técnica como "gapmeros" u oligonucleótidos con región interna. Los compuestos del segundo tipo se conocen también en la técnica como "hemimeros" o "alameros". Tales compuestos también se han denominado en la técnica como híbridos.

35 En un gapmero que tiene una longitud de 20 nucleótidos, una región interna o un ala puede tener una longitud de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 o 18 nucleótidos. En una realización, un gapmero de 20 nucleótidos se compone de una región interna de 8 nucleótidos de longitud, flanqueada en ambos lados 5' y 3' por alas de 6 nucleótidos de longitud. En otra realización, un gapmero de 20 nucleótidos se compone de una región interna de 8 nucleótidos de longitud, flanqueada en ambos lados 5' y 3' por alas de 5 nucleótidos de longitud. En otra realización, un gapmero de 20 nucleótidos se compone de una región interna de 12 nucleótidos de longitud, flanqueada en ambos lados 5' y 3' por alas de 4 nucleótidos de longitud. En una realización adicional, un gapmero de 20 nucleótidos se compone de una región interna de 14 nucleótidos de longitud, flanqueada en ambos lados 5' y 3' por alas de 3 nucleótidos de longitud. En otra realización, un gapmero de 20 nucleótidos se compone de una región interna de 16 nucleótidos de longitud, flanqueada en ambos lados 5' y 3' por alas de 2 nucleótidos de longitud. En otra realización, un gapmero de 20 nucleótidos se compone de una región interna de 18 nucleótidos de longitud, flanqueada en ambos extremos 5' y 3' por alas de 1 nucleótido de longitud. Alternativamente, las alas tienen diferentes longitudes, por ejemplo, un gapmero de 20 nucleótidos puede estar compuesto por una región interna de 10 nucleótidos de longitud, flanqueada por un ala de 6 nucleótidos en un lado (5' o 3') y un ala de 4 nucleótidos en el otro lado (5' o 3').

50 En un hemimero, un oligonucleótido quimérico con "extremo abierto" que tiene dos regiones químicamente distintas, una primera región químicamente distinta o el segmento de región interna, en un compuesto de 20 nucleótidos de longitud, se puede localizar en el extremo 5' terminal del oligonucleótido y puede tener 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19 nucleótidos de longitud. Además, una segunda región químicamente distinta en un compuesto de 20 nucleótidos de longitud, puede estar localizada en el extremo 3' terminal del oligonucleótido y puede tener una longitud de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19 nucleótidos. Por ejemplo, un hemimero de 20 nucleótidos puede tener una primera región químicamente distinta, o un segmento de región interna, de 10 nucleótidos en el extremo 5' y una segunda región químicamente distinta de 10 nucleótidos en el extremo 3'.

Documentos de patentes representativas de Estados Unidos que describen la preparación de dichas estructuras híbridas incluyen, pero no se limitan a: 5.013.830; 5.149.797; 5.220.007; 5.256.775; 5.366.878; 5.403.711; 5.491.133; 5.565.350; 5.623.065; 5.652.355; 5.652.356; y 5.700.922.

60 Los oligonucleótidos descritos en esta memoria comprenden desde aproximadamente 14 a aproximadamente 30 bases nucleicas (es decir, desde aproximadamente 14 a aproximadamente 30 nucleósidos enlazados). Un experto en la técnica apreciará que esto representa oligonucleótidos que tienen 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22,

23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 bases nucleicas. También se describen en esta memoria oligonucleótidos que tienen 1, 2 o 3 bases nucleicas añadidas o eliminadas de cualquier extremo de un oligonucleótido de aproximadamente 14 a 30 bases nucleicas de longitud, en donde los oligonucleótidos no pierden su eficacia terapéutica.

5 En una realización adicional, los oligonucleótidos descritos en esta memoria comprenden desde aproximadamente 20 a aproximadamente 30 bases nucleicas. Un experto en la técnica apreciará que esto representa oligonucleótidos que tienen 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 bases nucleicas. También se describen en esta memoria oligonucleótidos que tienen 1, 2 o 3 bases nucleicas añadidas o eliminadas de cualquier extremo de un oligonucleótido de aproximadamente 20 a 30 bases nucleicas de longitud, en donde los oligonucleótidos no pierden su eficacia terapéutica.

10 Los oligonucleótidos usados de acuerdo con esta invención se pueden preparar convenientemente y de manera rutinaria a través de la técnica bien conocida de síntesis en fase sólida. El equipo para dicha síntesis se puede obtener de varios vendedores que incluyen, por ejemplo, Applied Biosystems (Foster City, CA). Se puede emplear adicional o alternativamente cualquier otro medio para dicha síntesis que es conocido en la técnica. Es bien conocido el uso de técnicas similares para preparar oligonucleótidos tales como los fosforotioatos y los derivados alquilados.

15 Los oligonucleótidos descritos en la presente memoria, particularmente ISIS 301012 y los oligonucleótidos relacionados con ISIS 301012, abarcan cualquier sal, éster o sal de tales ésteres farmacéuticamente aceptables, o cualquier otro compuesto que tras la administración a un ser humano, es capaz de proporcionar (directa o indirectamente) el metabolito o el residuo biológicamente activo del oligonucleótido administrado. En consecuencia, por ejemplo, la descripción señala también profármacos y sales farmacéuticamente aceptables de los oligonucleótidos de la invención, sales farmacéuticamente aceptables de dichos profármacos, y otros bioequivalentes. Tal y como se usa en la presente memoria, "bioequivalencia" significa la ausencia de una diferencia significativa en la tasa y la medida en la que el ingrediente activo en equivalentes farmacéuticos está disponible en el sitio de acción del fármaco, cuando se administra en la misma dosis molar en condiciones similares. Tal y como se usa en esta memoria, "oligonucleótidos relacionados con ISIS 301012" incluyen oligonucleótidos que tienen la secuencia de ISIS 301012, que están truncados en 1 o 2 incrementos de bases desde el extremo 5' y/o 3'.

20 El término "profármaco" indica un agente terapéutico que se prepara en una forma inactiva y que se convierte en forma activa (es decir, fármaco) dentro del cuerpo, o de sus células, por la acción de enzimas endógenas u otros productos químicos y/o condiciones. En particular, las versiones de profármacos de los oligonucleótidos de la invención se preparan como derivados de SATE [(S-acetil-2-tioetil)fosfato] de acuerdo con los métodos descritos en el documento WO 93/24510 de Gosselin et al., publicado el 9 de diciembre 1993 o en los documentos WO 94/26764 y U.S. 5.770.713 de Imbach et al.

25 La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales fisiológica y farmacéuticamente aceptables de los oligonucleótidos de la invención: es decir, sales que conservan la actividad biológica deseada del compuesto original y no confieren efectos toxicológicos no deseados al mismo.

30 Para los oligonucleótidos, los ejemplos preferidos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen pero no se limitan a (a) sales formadas con cationes tales como sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, poliaminas tales como espermina y espermidina, etc.; (b) sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico y similares; (c) sales formadas con ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido cáprico, ácido acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido cítrico, ácido málico, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido tánico, ácido palmítico, ácido alginico, poli(ácido glutámico), ácido naftalensulfónico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluensulfónico, ácido naftalendisulfónico, poli(ácido galacturónico) y similares; y (d) sales formadas a partir de aniones elementales tales como cloro, bromo y yodo.

45 **Indicaciones clínicas**

En esta memoria se describen métodos para tratar, prevenir o mejorar trastornos asociados con colesterol LDL elevado en suero, que comprenden administrar a un sujeto humano una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un oligonucleótido que inhibe la expresión de la apolipoproteína B. Un compuesto tal es ISIS 301012. Tales trastornos incluyen hipercolesterolemia, hipercolesterolemia familiar homocigótica, hipercolesterolemia familiar heterocigótica, hipercolesterolemia no familiar, hipercolesterolemia familiar combinada y apolipoproteína B familiar defectuosa. Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una dosis que cuando se administra a un ser humano, disminuye uno o varios parámetros lipídicos que incluyen colesterol LDL en suero, apolipoproteína B en suero, colesterol VLDL en suero, colesterol total en suero, lipoproteína (a) en suero, triglicéridos en suero, proporción de colesterol total:HDL en suero o proporción LDL:HDL en suero. Tal y como se utiliza en esta memoria, la expresión "cantidad profilácticamente eficaz" significa una dosis que cuando se administra a un ser humano, impide un aumento en uno o varios parámetros lipídicos que incluyen el colesterol LDL en suero, la apolipoproteína B en suero, el colesterol VLDL en suero, el colesterol total en suero, la lipoproteína (a) en suero, los triglicéridos en suero, la proporción de colesterol total:HDL en suero o la proporción LDL:HDL en suero.

También se describen en esta memoria métodos para tratar, prevenir o mejorar trastornos asociados con colesterol LDL en suero elevado en un sujeto humano, tratado previamente sin éxito con agentes reductores de lípidos. En una realización, el sujeto humano fue tratado previamente sin éxito con una estatina. Se entiende que tales sujetos incluyen sujetos hipercolesterolémicos familiares homocigóticos que no responden a una estatina o que muestran una respuesta limitada a una estatina, debido a una actividad insuficiente del receptor de LDL. Por lo tanto, sujetos hipercolesterolémicos familiares homocigóticos, así como los hipercolesterolémicos heterocigóticos, frecuentemente no alcanzan los niveles de lípidos clínicamente deseables, por ejemplo, del colesterol total en suero o del colesterol LDL en suero. Un experto en la técnica entenderá además que los sujetos tratados previamente sin éxito con agentes terapéuticos reductores de lípidos, incluyen los que son intolerantes a ciertos agentes reductores de lípidos. Por ejemplo, los que experimentan efectos secundarios graves después del tratamiento con una estatina, p. ej., rabdomiolisis, son intolerantes a una estatina y por lo tanto no alcanzan niveles clínicamente deseables de lípidos con la terapia de estatina. Otros sujetos incluyen los que experimentan efectos adversos después de la administración de los agentes reductores de lípidos actuales, por ejemplo, miopatía, fatiga o efectos sobre el sistema nervioso central (por ejemplo, insomnio) después del tratamiento con una estatina, y del mismo modo no alcanzan los niveles clínicamente deseados de lípidos con la terapia de estatina. En una realización, a sujetos humanos previamente tratados sin éxito con una estatina, se les dan dosis de ISIS 301012 que proporcionan beneficios terapéuticos, tales como una disminución de la apolipoproteína B en suero, disminución del colesterol LDL en suero o disminución del colesterol total en suero.

Tal y como se usa en la presente memoria, "previamente tratados sin éxito con una estatina" se entiende que incluye sujetos humanos que no están alcanzando los niveles de lípidos clínicamente deseables (por ejemplo, colesterol LDL en suero, colesterol VLDL en suero, colesterol total en suero) debido a una o varias de las siguientes razones: actividad insuficiente del receptor de LDL; intolerancia a una estatina; efectos adversos después del tratamiento con una estatina; o poco cumplimiento de la terapia con estatinas recomendada clínicamente.

Tal y como se utiliza en la presente memoria, un sujeto humano que tiene "actividad insuficiente del receptor de LDL" se entiende que incluye un sujeto que cumple uno o varios de los siguientes criterios: pruebas genéticas que confirman 2 genes mutados del receptor de LDL; anamnesis documentada de colesterol LDL en suero sin tratar, superior a 500 mg/dL; xantoma tendinoso y/o cutáneo antes de los 10 años; o bien, ambos padres tienen colesterol LDL en suero elevado documentado, antes de la terapia hipolipemiente que concuerda con una hipercolesterolemia familiar heterocigótica. En algunas realizaciones, el sujeto ha sido diagnosticado con hipercolesterolemia familiar homocigótica o heterocigótica.

También se describen en esta memoria métodos para tratar, prevenir o mejorar trastornos relacionados con la apolipoproteína B. Tal y como se usa en la presente memoria, un "trastorno relacionado con la apolipoproteína B" indica estados o enfermedades que están asociados con niveles elevados en suero de apolipoproteína B, e incluyen hipercolesterolemia familiar, apoB-100 familiar defectuosa, hipercolesterolemia familiar combinada, hipercolesterolemia no familiar (o poligénica), hipertrigliceridemia, síndrome metabólico y diabetes de tipo 2.

Con respecto a algunos aspectos, la presente invención incluye métodos para tratar sujetos humanos que muestran niveles elevados de partículas de LDL pequeñas, teniendo tales sujetos más colesterol LDL transportado en partículas de LDL pequeñas que en comparación con partículas de LDL grandes, que comprenden la administración a un sujeto de una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un oligonucleótido que inhibe la expresión de la apolipoproteína B. Uno de tales compuestos es ISIS 301012. Los niveles totales de colesterol LDL en tales sujetos no son elevados.

También se describe en esta memoria un método para usar un oligonucleótido que comprende la secuencia de bases nucleicas "GCCTCAGTCTGCTTCGCACC" (SEQ ID NO: 2) en un tratamiento para reducir el colesterol LDL en suero en un sujeto humano. El método comprende informar al sujeto humano de que la administración de dicho oligonucleótido da como resultado una AUC plasmática mínima de al menos aproximadamente 2 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, da como resultado una concentración plasmática mínima de al menos aproximadamente 5 ng/dL o da como resultado una concentración hepática estimada de dicho oligonucleótido de al menos aproximadamente 10 $\mu\text{g}/\text{g}$. En algunas realizaciones, el oligonucleótido comprende ISIS 301012.

Tal y como se utiliza en la presente memoria, "informar" se refiere a proporcionar información relativa a las actividades farmacológicas, farmacocinéticas y/o farmacodinámicas de un oligonucleótido. El acto de informar se puede realizar, por ejemplo, proporcionando una descripción verbal o proporcionando material impreso. En los casos en que se utiliza el material impreso, el material impreso puede proporcionar, por ejemplo, información relativa a los efectos del oligonucleótido sobre el colesterol LDL en suero, el colesterol VLDL en suero, el colesterol total en suero, las partículas de LDL pequeñas en suero, la proporción en suero de colesterol total:HDL o la proporción en suero de LDL:HDL. El material impreso puede proporcionar además información relativa al perfil farmacocinético de un oligonucleótido, tal como, por ejemplo, a través de la AUC plasmática mínima, las concentraciones plasmáticas mínimas, la semivida de eliminación, las concentraciones estimadas de tejido o $C_{\text{máx}}$. En una realización, el material impreso proporciona información relacionada con los efectos farmacodinámicos y farmacocinéticos de ISIS 301012. Tal y como se usa en esta memoria, "informar" no requiere más que el simple hecho de proporcionar la información. No es necesario que los destinatarios de la información acepten, acusen recibo o comprendan la información.

Tal y como se utiliza en la presente memoria, "etiqueta" se refiere a material impreso que se asocia con un envase para contener los oligonucleótidos y/o las composiciones farmacéuticas que incluyen los oligonucleótidos descritos en la presente memoria. A modo de ejemplo no limitativo, la etiqueta y el envase se pueden colocar juntos en una caja o un recubrimiento retráctil. Alternativamente, la etiqueta puede estar fijada directamente al envase. En otras realizaciones, la etiqueta no tiene que estar asociada físicamente o en proximidad física con el envase, sin embargo, la etiqueta se debe proporcionar al mismo tiempo o en un tiempo razonablemente próximo, al momento de proporcionar el envase.

Composiciones farmacéuticas

Las composiciones farmacéuticas que comprenden oligonucleótidos (por ejemplo, la composición farmacéutica que comprende ISIS 301012 u oligonucleótidos relacionados con ISIS 301012), se pueden administrar por una variedad de modos, que incluyen la vía parenteral. La administración parenteral se entiende que incluye la inyección o infusión intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular. En un aspecto, la administración de oligonucleótidos, tales como ISIS 301012, a un sujeto humano, es realizada por un profesional sanitario. En otro aspecto, la administración de los oligonucleótidos es realizada por una persona designada, entrenada, tal como, por ejemplo, el sujeto. En un aspecto, un oligonucleótido se administra por vía subcutánea como una inyección única en el abdomen o en el muslo. Alternativamente, la dosis se divide y se administra como 2 o 3 inyecciones no seguidas en el abdomen o en el muslo.

Las composiciones y formulaciones para la administración parenteral pueden incluir soluciones acuosas estériles, que pueden contener también tampones, diluyentes y otros aditivos adecuados, pero sin limitarse a los mismos, potenciadores de la penetración, compuestos portadores y otros vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas líquidas de oligonucleótido se pueden preparar mediante la combinación del oligonucleótido con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril exenta de pirógenos o solución salina. El agua estéril exenta de pirógenos se entiende que incluye agua estéril para inyección.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención, que pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria, se pueden preparar de acuerdo con técnicas convencionales bien conocidas en la industria farmacéutica. Tales técnicas incluyen la etapa de asociar los ingredientes activos con el(los) vehículo(s) farmacéutico(s) o excipiente(s). En general, las formulaciones se preparan asociando los ingredientes activos con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y luego, si es necesario, dando forma al producto.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden formularse como suspensiones en medios acuosos, no acuosos o mixtos. Las composiciones farmacéuticas pueden incluir tampones fisiológicamente compatibles, que incluyen, por ejemplo, solución salina tamponada con fosfato (PBS). Las suspensiones acuosas pueden contener además sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión que incluyen, por ejemplo, carboximetilcelulosa sódica, sorbitol y/o dextrano. La suspensión también puede contener estabilizantes.

Un "vehículo farmacéutico" o un "excipiente" es un disolvente farmacéuticamente aceptable, un agente de suspensión o cualquier otro vehículo farmacológicamente inerte para administrar uno o varios oligonucleótidos a un animal. El excipiente puede ser líquido o sólido y se selecciona, teniendo en cuenta la manera planeada de administración, de modo que se proporcione el grosor deseado, la consistencia deseada, etc., cuando se combina con un oligonucleótido y cualquier otro componente de una composición farmacéutica dada. Los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, agua, soluciones salinas, alcoholes, polietilenglicoles, gelatina, lactosa, amilosa, estearato de magnesio, talco, ácido silícico, parafina viscosa, hidroximetilcelulosa, polivinilpirrolidona y similares.

Las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen varios productos farmacéuticos activos. En un aspecto, un producto farmacéutico activo es una solución estéril de oligonucleótido en agua para inyección que se puede administrar como una inyección subcutánea o como una infusión intravenosa, tras la dilución en la solución salina. La concentración del ingrediente farmacéutico activo es de 250 mg/mL. Esta formulación comprende el oligonucleótido en agua para inyección ajustado a pH 7,0-9,0 con ácido o base durante la preparación. El oligonucleótido en agua se envasa en un vial de vidrio transparente de tipo I (tratado con sulfato de amonio), tapado con un cierre de goma de bromobutilo recubierto con TEFLON®, y sobresellado con FLIP-OFF® de aluminio. En una realización, el oligonucleótido estéril en agua para solución para inyección comprende ISIS 301012.

En un aspecto adicional, un producto farmacéutico activo es un oligonucleótido liofilizado estéril que se reconstituye con un diluyente adecuado, por ejemplo, agua estéril para inyección. El producto reconstituido se administra como una inyección subcutánea o como una infusión intravenosa tras la dilución en solución salina. El producto farmacéutico liofilizado consiste en el oligonucleótido que se ha preparado en agua para inyección, ajustado a pH 7,0-9,0 con ácido o base durante la preparación, y luego liofilizado. El producto farmacéutico liofilizado puede tener 50-125 mg del oligonucleótido. Se entiende que esto abarca 50, 75, 100 y 125 mg de oligonucleótido liofilizado. El producto farmacológico liofilizado puede envasarse en un vial de vidrio transparente de tipo I de 2 ml

(tratado con sulfato de amonio), tapado con un cierre de caucho de bromobutilo y sobresellado con un FLIP-OFF® de aluminio. En una realización, el producto farmacéutico liofilizado comprende ISIS 301012.

Las composiciones de la presente invención pueden contener adicionalmente otros componentes auxiliares encontrados convencionalmente en composiciones farmacéuticas, en sus niveles de uso establecidos en la técnica. Así, por ejemplo, las composiciones pueden contener materiales adicionales, compatibles, farmacéuticamente activos tales como, por ejemplo, agentes antipruríticos, astringentes, anestésicos locales o antiinflamatorios, o pueden contener materiales adicionales útiles en la formulación física de diversas formas de dosificación de las composiciones de la presente invención, tales como colorantes, agentes aromatizantes, conservantes, antioxidantes, opacificantes, agentes espesantes y estabilizantes. Sin embargo, dichos materiales, cuando se añaden, no deberían interferir indebidamente con las actividades biológicas de los componentes de las composiciones de la presente invención. Las formulaciones pueden esterilizarse y, si se desea, mezclarse con agentes auxiliares, por ejemplo, agentes lubricantes, conservantes, estabilizantes, humectantes, emulsionantes, sales para influir en la presión osmótica, tampones, colorantes, aromatizantes y/o sustancias aromáticas y similares, que no interaccionan perjudicialmente con el(los) oligonucleótido(s) de la formulación.

15 **Dosificación**

Tal y como se utiliza en la presente memoria, una "dosis" se refiere a la cantidad de fármaco administrado a un sujeto humano en un día; por ejemplo, mediante administración intravenosa o subcutánea, en una administración única o dividida en múltiples administraciones. Un intervalo de dosis preferido para un sujeto típico de 70 kg es de aproximadamente 25-800 mg. Intervalos más preferidos incluyen aproximadamente 25-600 mg, aproximadamente 25-400 mg, aproximadamente 25-200 mg, aproximadamente 50-600 mg, aproximadamente 50-400 mg o aproximadamente 50-200 mg en un día. Intervalos adicionales incluyen aproximadamente 0,1-5 mg/kg, aproximadamente 0,5-3 mg/kg, aproximadamente 0,5-8 mg/kg, aproximadamente 0,25-3 mg/kg o aproximadamente 0,25-2 mg/kg. Tal y como se usa en la presente memoria, la cantidad de fármaco administrado en una dosis oscila desde 50 hasta 600 mg por semana. Se entiende que dosis de 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550 y 600 mg por semana, todas se incluyen dentro del intervalo de 50-600 mg/semana. Tal y como se usa en la presente memoria, los términos "paciente" y "sujeto" son intercambiables.

Los regímenes de dosificación pueden incluir dosis durante un periodo de carga y/o un periodo de mantenimiento. Durante el periodo de carga, que por lo general o lo más frecuente se produce al principio de la terapia y que dura aproximadamente una semana (aunque podría ser mayor o menor, por ejemplo 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 días), se puede proporcionar múltiples administraciones cada día, cada 2 días, cada 3 días, cada 4 días, cada 5 días, cada 6 días o cada semana. Alternativamente, el periodo de carga puede durar aproximadamente 28 días, aunque podría ser mayor o menor, por ejemplo, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 o 35 días, y una sola administración se puede administrar cada día, cada 2 días, cada 3 días, cada 4 días, cada 5 días, cada 6 días o cada 7 días. Durante un periodo de mantenimiento, que sigue el periodo de carga y puede durar durante varios años o toda la vida del sujeto, las dosis se pueden administrar con una frecuencia que oscila desde cada día a cada 3 meses, lo que se entiende que incluye todos los días, cada 2 días, cada 3 días, cada 4 días, cada 5 días, cada 6 días, cada semana, cada 2 semanas, cada 3 semanas, cada 4 semanas, cada mes, cada 2 meses o cada 3 meses. Las dosis del periodo de mantenimiento son típicamente, pero no siempre, inferiores a las dosis del periodo de carga, y pueden variar desde 10 hasta 50 mg/día. Unos niveles de lípidos disminuidos, tales como de apolipoproteína B en suero, colesterol total en suero, colesterol LDL en suero, colesterol VLDL en suero, lipoproteína (a) en suero, proporción sérica de LDL:HDL y/o proporción sérica de colesterol:HDL, se pueden mantener durante al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 semanas (o 1, 2, 3 o 4 meses) después de una dosis del fármaco.

Un régimen de dosificación alternativo puede incluir dosis administradas durante un periodo de mantenimiento, sin un periodo de carga anterior. Las dosis se pueden administrar con una frecuencia que oscila desde cada día hasta cada tres meses, lo que se entiende que incluye todos los días, cada 2 días, cada 3 días, cada 4 días, cada 5 días, cada 6 días, cada semana, cada 2 semanas, cada 3 semanas, cada 4 semanas, cada mes, cada 2 meses o cada 3 meses.

El término "biodisponibilidad" se refiere a una medición de la porción de un fármaco administrado que llega al sistema circulatorio (por ejemplo, la sangre, especialmente el plasma sanguíneo) cuando se emplea un modo particular de administración para administrar el fármaco. Por ejemplo, cuando se utiliza un modo de administración subcutánea para introducir el fármaco en un sujeto humano, la biodisponibilidad para tal modo de administración se puede comparar con un modo de administración diferente (por ejemplo, un modo de administración intravenoso) y las extrapolaciones realizadas para facilitar la determinación de la terapia apropiada. En general, la biodisponibilidad puede evaluarse midiendo el área bajo la curva (AUC) o la concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$) en suero o plasma de la forma inalterada de un fármaco, después de la administración del fármaco a un sujeto humano. El AUC es una determinación del área bajo la curva que representa gráficamente la concentración sérica o plasmática de un fármaco a lo largo de la ordenada (eje Y) frente al tiempo a lo largo de la abscisa (eje X). Generalmente, el AUC para un fármaco en particular se puede calcular usando métodos conocidos por los expertos normales en la técnica y tal y como se describe en G. S. Banker, "Modern Pharmaceutics, Drugs and the Pharmaceutical Sciences", 4ª ed., (Mayo 2002). En algunas realizaciones, el área bajo la curva de la concentración plasmática sanguínea de un fármaco (AUC_{sc}) después de la administración subcutánea, se puede dividir

por el área bajo la curva de la concentración plasmática de un fármaco después de la administración intravenosa (AUC_{iv}), para proporcionar un cociente adimensional (biodisponibilidad relativa, BR) que representa la fracción de fármaco absorbido a través de la vía subcutánea en comparación con la vía intravenosa.

5 Tal y como se utiliza en la presente memoria, "AUC" o " $AUC_{0-\infty}$ " indica el área bajo la curva de concentración-tiempo desde el tiempo 0 (al administrar o antes de la administración del oligonucleótido) hasta el infinito. " AUC_{0-48} " se refiere al área bajo la curva de concentración-tiempo desde el tiempo 0 (al administrar o antes de la administración del oligonucleótido) hasta 48 horas después de la administración del oligonucleótido. En una realización, el oligonucleótido es ISIS 301012.

10 Una medición mínima se determina en un momento después de la dosificación, cuando las concentraciones de fármaco en plasma están en equilibrio con las concentraciones de fármaco en el tejido, y cuando las concentraciones de fármaco ya no se ven afectadas por las funciones de absorción o aclaramiento, tales como la distribución de una dosis inyectada a diversos tejidos. Por ejemplo, en el caso de oligonucleótidos, tales como ISIS 301012, los cálculos mínimos se realizan al menos 3 días después de la administración del oligonucleótido a un sujeto humano. Tal y como se usa en la presente memoria, " $C_{mínima}$ " o "concentración plasmática mínima" se refiere a una concentración mínima en el plasma cuando las concentraciones plasmáticas de oligonucleótido están en equilibrio con las concentraciones tisulares de oligonucleótido. En una realización, el oligonucleótido es ISIS 301012. La semivida de un fármaco se puede calcular usando métodos conocidos por los expertos normales en la técnica. La semivida del oligonucleótido se determina durante la fase de distribución o la fase de eliminación, después de la administración del oligonucleótido. La semivida de distribución aparente se calcula usando la regresión log-lineal de las concentraciones de oligonucleótido en el plasma durante la fase de distribución. A modo de ejemplo, la fase de distribución de un oligonucleótido puede durar hasta 3 días después de la administración del oligonucleótido a un sujeto humano. Tal y como se usa en la presente memoria, "la semivida de eliminación terminal" o "semivida de eliminación" representa el momento en el que se aclara de los tejidos aproximadamente el 50% del oligonucleótido administrado, y se calcula empleando la regresión log-lineal de las concentraciones de oligonucleótido en plasma durante la fase de eliminación terminal de la administración.

30 Un experto en la técnica entenderá que para los oligonucleótidos, el AUC plasmática, $C_{máx}$, $C_{mínima}$, y los parámetros relacionados se miden en la fracción plasmática de la sangre, en lugar de en la fracción sérica, ya que la medición de la fracción plasmática refleja la cantidad clínicamente más relevante de oligonucleótido unido a proteínas plasmáticas y transportado por las mismas. Las concentraciones de oligonucleótido en plasma se pueden determinar por métodos de rutina en la técnica, por ejemplo, mediante ELISA basado en la hibridación. Asimismo se entiende que los parámetros lipídicos, incluyendo apolipoproteína B, colesterol LDL, colesterol total, colesterol VLDL, lipoproteína (a), colesterol HDL o triglicéridos, se miden en la fracción sérica o plasmática de la sangre.

40 En general, la biodisponibilidad se correlaciona con la eficacia terapéutica cuando la eficacia terapéutica de un compuesto está relacionada con la concentración sanguínea (o plasmática) obtenida, incluso si el sitio de acción final del fármaco es intracelular (van Berge-Henegouwen et al., *Gastroenterol.*, 1977, 73, 300). La eficacia terapéutica de ISIS 301012 se determina comparando la concentración plasmática de ISIS 301012, por ejemplo, con reducciones en suero de colesterol LDL.

45 La biodisponibilidad en un órgano se refiere a la concentración de un oligonucleótido en un órgano. La biodisponibilidad en un órgano se puede medir en sujetos humanos por una variedad de medios, tales como mediante radiografía de todo el cuerpo. La biodisponibilidad en un órgano se puede modificar, por ejemplo, mejorando, con una o varias modificaciones de un oligonucleótido, mediante el uso de uno o varios compuestos portadores o excipientes, etc., tal y como se describe con más detalle en esta memoria. En general, un aumento de la biodisponibilidad se traducirá en un aumento de la biodisponibilidad de un órgano. Las concentraciones plasmáticas mínimas de oligonucleótido, incluyendo las concentraciones plasmáticas mínimas de ISIS 301012, están en equilibrio con las concentraciones de fármaco tisulares y por lo tanto se utilizan como una representación de la concentración en los tejidos hepáticos.

50 Los efectos de los tratamientos con oligonucleótidos tales como ISIS 301012, se pueden evaluar después de la recogida de tejidos o fluidos de un sujeto humano que recibe dichos tratamientos. Se conoce en la técnica que una muestra de biopsia se puede obtener a partir de ciertos tejidos sin provocar efectos perjudiciales a un sujeto. En ciertas realizaciones, un tejido y sus células constituyentes comprenden, pero no están limitados a, sangre (por ejemplo, células hematopoyéticas, tales como las células progenitoras hematopoyéticas humanas, células madre hematopoyéticas humanas, células $CD34^+$, células $CD4^+$), linfocitos y otras células de la estirpe sanguínea, médula ósea, mama, cuello del útero, colon, esófago, ganglio linfático, músculo, sangre periférica, mucosa oral y piel. En otras realizaciones, un líquido y sus células constituyentes comprenden, pero no están limitados a sangre, orina, semen, líquido sinovial, líquido linfático y líquido cefalorraquídeo.

60 Los tejidos o los fluidos de los sujetos se pueden evaluar para estudiar los niveles de expresión del ARNm o la proteína diana. Además, se pueden evaluar los niveles de expresión del ARNm o de la proteína de otros genes

conocidos o sospechosos de estar asociados con el estado de enfermedad, afección o fenotipo específicos. Los niveles de ARNm se pueden medir o evaluar con PCR en tiempo real, transferencia de tipo Northern, hibridación in situ o análisis de micromatrices de ADN. Los niveles proteicos se pueden medir o evaluar con ELISA, inmunotransferencia, ensayos cuantitativos de proteínas, ensayos de la actividad de la proteína (por ejemplo, ensayos de la actividad caspasa), inmunohistoquímica o inmunocitoquímica.

Por otra parte, los efectos del tratamiento se pueden evaluar midiendo los parámetros de lípidos, tal como se describe en este documento (colesterol, lipoproteínas y triglicéridos, etc.), o biomarcadores asociados con la enfermedad o la afección en los tejidos y fluidos mencionados anteriormente, recogidos de un paciente o un sujeto que recibe el tratamiento, mediante métodos clínicos rutinarios conocidos en la técnica. Estos biomarcadores incluyen, pero no se limitan a: glucosa, ácidos grasos libres y otros marcadores del metabolismo de la glucosa y de los lípidos; transaminasas hepáticas, bilirrubina, albúmina, nitrógeno ureico en sangre, creatinina y otros marcadores de la función renal y hepática; interleucinas, factores de necrosis tumoral, moléculas de adhesión intracelular, proteína C reactiva y otros marcadores de la inflamación; testosterona, estrógenos y otras hormonas; marcadores tumorales; vitaminas, minerales y electrolitos.

Además, la espectroscopía por resonancia magnética nuclear (RMN) se utiliza para determinar las concentraciones de partículas de lipoproteínas en la sangre, incluyendo las partículas de VLDL (total, grandes/quilomicrones, medianas y pequeñas), partículas de LDL (total, grandes, pequeñas, medianas-pequeñas y muy pequeñas) y partículas de HDL (grandes, medianas y pequeñas). Tales mediciones del tamaño de las partículas de lipoproteínas permiten determinar las subclases de colesterol LDL, colesterol VLDL y colesterol HDL, por ejemplo, la fracción de colesterol LDL que es transportada en pequeñas partículas de LDL frente a partículas grandes de LDL.

Las mediciones in situ de parámetros de lípidos en los tejidos y líquidos también pueden llevarse a cabo utilizando técnicas de formación de imagen de todo el cuerpo, incluyendo la ecografía, la tomografía computarizada (TC) o la formación de imágenes por resonancia magnética.

Aunque la presente invención ha sido descrita con especificidad de acuerdo con ciertas realizaciones, los siguientes ejemplos sirven solamente para ilustrar la invención y no están destinados a limitar la misma.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Inhibición antisentido de la expresión de la apolipoproteína B humana con un oligonucleótido quimérico con fosforotioato que tienen alas 2'-MOE y una región interna desoxi (ISIS 301012)

Se diseñó un oligonucleótido para el ARN de la apolipoproteína B humana diana, usando una secuencia publicada (número de entrada de GenBank NM_000384.1, incorporada en esta memoria como SEQ ID NO: 1) y se denomina en lo sucesivo ISIS 301012 (GCCTCAGTCTGCTTCGCACC; SEQ ID NO: 2). ISIS 301012 es un oligonucleótido quimérico sintetizado utilizando métodos como los descritos en el documento WO 2004044181. El oligonucleótido ISIS 301012 quimérico es un "gapmero" de 20 nucleótidos de longitud, compuesto por una región central "interna" que consta de diez 2'-desoxinucleótidos, y flanqueada a ambos lados (direcciones 5' y 3') por "alas" de cinco nucleótidos. Las alas están compuestas por 2'-O-metoxietil (2'-MOE) nucleótidos. ISIS 301012 se muestra en la Tabla 1, en donde, en la secuencia de nucleótidos, los 2'-desoxinucleótidos (bases nucleicas 6-15) se indican con letra normal y los nucleótidos 2'-MOE (bases nucleicas 1-5 y 16-20) se indican con letra negrita y subrayada. Los enlaces internucleosídicos (cadena principal) son enlaces fosforotioato (P=S) a lo largo de todo el oligonucleótido. Todos los residuos de citidina son 5-metilcitidinas.

ISIS 301012 reduce la apolipoproteína B humana *in vitro* e *in vivo*. En la Tabla 1, el "sitio diana" indica el número del primer nucleótido (más 5') en la secuencia diana particular, al que se une el oligonucleótido.

Tabla 1

Sitio diana y Secuencia de ISIS 301012

Nº de ISIS	REGIÓN	SEQ ID NO DE LA DIANA	SITIO DE LA DIANA	SECUENCIA	SEQ ID NO
301012	Región codificadora	2	3249	<u>GCCTCAGTCTGCTTCGCACC</u>	2

Ejemplo 2**Efectos de la inhibición antisentido de la apolipoproteína B en monos cangrejeros**

Se utilizaron monos cangrejeros (machos o hembras) para evaluar los oligonucleótidos antisentido por su potencial para disminuir el ARNm de la apolipoproteína B o los niveles de proteína in vivo, así como para evaluar los criterios de valoración fenotípicos asociados con la expresión de la apolipoproteína B. Como parte de este ejemplo, se determinaron los niveles de colesterol LDL y colesterol total de los monos tratados.

ISIS 301012 en monos cangrejeros delgados

El oligonucleótido ISIS 301012 fue investigado en un estudio a largo plazo para estudiar sus efectos sobre la expresión de la apolipoproteína B y los niveles de lípidos en suero en monos cangrejeros.

10 Monos cangrejeros machos y hembras fueron tratados con 2, 4 o 12 mg/kg de ISIS 301012 por vía intravenosa, o 2 o 20 mg/kg por vía subcutánea, con una frecuencia de cada dos días durante la primera semana, y cada 4 días a continuación, durante periodos de tratamiento de 1 y 3 meses. Los animales tratados con solución salina sirvieron como testigos negativos. Cada grupo de tratamiento incluía 2 a 3 animales de cada sexo.

15 Con un intervalo de un mes y a los 3 meses de la terminación del estudio, se sacrificaron los animales y se evaluó la expresión de la apolipoproteína B en el hígado, los niveles de lípidos en suero y los indicadores de toxicidad. Se aisló el ARN a partir de tejido hepático y la expresión del ARNm de la apolipoproteína B se midió con PCR en tiempo real, tal y como se describe en el documento de Solicitud de EE.UU n° de serie 10/712.795. Los lípidos séricos, incluyendo el colesterol total, el colesterol LDL, el colesterol HDL y los triglicéridos, fueron evaluados con análisis clínicos rutinarios, por ejemplo, usando un analizador clínico de Olympus (Olympus America Inc., Melville, NY). Las proporciones de colesterol LDL a colesterol HDL y de colesterol total a colesterol HDL, también se calcularon. Los análisis de la aminotransferasa de alanina sérica (ALT) y aminotransferasa de aspartato sérica (AST), de infiltrados inflamatorios en el tejido y de gránulos basófilos en el tejido, proporcionaron una evaluación de la toxicidad relacionada con el tratamiento. La esteatosis hepática, o acumulación de lípidos en el hígado, se evaluó mediante análisis histológicos de rutina con tinción con rojo oleoso O y la medición de triglicéridos en el tejido hepático, usando un ensayo GPO de triglicéridos (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO).

25 Los resultados procedentes del intervalo de un mes del tratamiento a largo plazo, se muestran en la Tabla 2 y se normalizaron frente a animales tratados con solución salina, para el ARNm y frente a los valores de referencia no tratados, para los niveles de lípidos. Los niveles en suero de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, concentración de partículas de LDL y triglicéridos se midieron por espectroscopia de resonancia magnética nuclear mediante Liposcience (Raleigh, NC). Además, la concentración de oligonucleótido intacto en el hígado se midió mediante electroforesis en gel capilar y se presenta como microgramos de oligonucleótido por gramo de tejido hepático. Cada resultado representa el promedio de los datos de 4 animales (2 machos y 2 hembras). Cuando está presente, "ND" indica "no determinado".

Tabla 2

Efectos de ISIS 301012 en monos cangrejeros delgados después de 4 semanas de tratamiento						
	Solución salina	Administración intravenosa			Inyección subcutánea	
		2 mg/kg	4 mg/kg	12 mg/kg	3,5 mg/kg	20 mg/kg
expresión de apolipoproteína B (% de cambio normalizado frente a solución salina)		-45	-76	-96	n.d.	-94
concentración de oligonucleótido antisentido en el hígado (µg/g)		92	179	550	n.d.	855
Parámetros lipídicos (% de cambio normalizado frente al valor de referencia no tratado)	Solución salina	2 mg/kg	4 mg/kg	12 mg/kg	3,5 mg/kg	20 mg/kg
Colesterol total	+1	-6	-2	-2	+5	-5
Colesterol LDL	+17	+15	+9	+3	-4	-16
Colesterol HDL	-11	-23	-15	-8	+13	+5
LDL/HDL	+62	+94	+38	+44	-15	-19
Colesterol total/HDL	+30	+44	+22	+21	-7	-10
Triglicérido	+37	+26	+32	+15	+1	-3
Concentración de partículas de LDL	+15	+8	+8	-11	-14	-21

5 Estos datos muestran que ISIS 301012 inhibía la expresión de la apolipoproteína B de una manera dependiente de la dosis en una especie de primates y de forma concomitante disminuía los niveles de lípidos con dosis más altas de ISIS 301012. Además, estos resultados muestran que ISIS 301012 se acumulaba en el hígado en una forma dependiente de la dosis.

10 Después de 13 semanas de tratamiento con una dosis intravenosa de 2 mg/kg de ISIS 301012 o una dosis subcutánea de 20 mg/kg de ISIS 301012, se midieron los niveles en suero de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, la concentración de partículas LDL y triglicéridos mediante espectroscopía con resonancia magnética nuclear de LipoScience, Inc. (Raleigh, NC). Estos datos se muestran en la Tabla 3 y se normalizaron frente a los valores de referencia sin tratar. Cada resultado representa el promedio de los datos de 4 animales (2 machos y 2 hembras).

Tabla 3

Efectos de ISIS 301012 en monos cangrejeros delgados después de 13 semanas de tratamiento			
Parámetros lipídicos, % de cambio normalizado frente al valor de referencia no tratado	Solución salina	2 mg/kg	20 mg/kg
Colesterol total	+11	+7	+11
Colesterol LDL	+36	+4	-3
Colesterol HDL	-8	+18	+5
LDL/HDL	+64	-6	-20
Colesterol total/HDL	+30	+5	-11
Triglicérido	+36	+5	+10
Concentración de partículas de LDL	+31	-3	-7

15 Estos datos ilustran una disminución significativa del colesterol LDL y de las proporciones de colesterol total/HDL y LDL/HDL después de 13 semanas de tratamiento con ISIS 301012. Además, los niveles de colesterol HDL se incrementaron significativamente.

No se observó esteatosis hepática, o acumulación de lípidos en el hígado, después de 4 semanas de tratamiento con las dosis indicadas. Se observó una toxicidad esperada relacionada con la dosis, con las dosis más altas de 12 y 20 mg/kg, incluyendo un incremento transitorio de 1,2-1,3 veces en el tiempo de la tromboplastina parcial activada (APTT), durante las primeras 4 horas y gránulos basófilos en el hígado y el riñón (tal y como se determinó con un examen histológico de rutina con muestras de tejidos). No se observaron cambios funcionales en el riñón.

En un experimento similar, monos cangrejeros machos y hembras recibieron una dosis intravenosa de ISIS 301012 a 4 mg/kg, cada dos días durante la primera semana y después cada 4 días. Los grupos de animales se sacrificaron después de la primera dosis y la cuarta dosis, así como los días 11, 15 y 23 después de la cuarta dosis y la dosis final. El ARNm del hígado y los niveles de ARNm de apolipoproteína B fueron evaluados con PCR en tiempo real, tal y como se describe en el documento de solicitud de EE.UU. n° de serie 10/712.795. Los resultados de este experimento mostraron una reducción del 40% en la expresión del ARNm de la apolipoproteína B después de una dosis intravenosa única de 4 mg/kg de ISIS 301012. Además, después de 4 dosis de ISIS 301012 a 4 mg/kg, el ARNm de la apolipoproteína B se redujo en aproximadamente 85% y una reducción del 50% en el ARNm de la apolipoproteína B se mantuvo hasta 16 días después del cese del tratamiento con ISIS 301012.

ISIS 326358 en monos cangrejeros alimentados con dieta rica en grasas

En una realización adicional, se evaluaron los efectos de la inhibición antisentido de la apolipoproteína B en monos cangrejeros con alimentación rica en grasas. ISIS 326358 (GCCTCAGTCTGCTTTACACC; SEQ ID NO: 3) es un oligonucleótido y el equivalente en monos cangrejeros de ISIS 301012. El oligonucleótido ISIS 326356 difiere de ISIS 301012 en 2 posiciones de bases nucleicas. Como ISIS 301012, ISIS 326358 es un gapmero, que tiene una porción central interna de 10 2'-desoxinucleótidos, que está flanqueada a ambos lados (5' y 3') por porciones de ala de 5 2'-MOE nucleótidos. Todos los enlaces internucleósidos son fosforotioato, y todos los residuos de citidina son 5-metilcitidinas.

La actividad farmacológica de ISIS 326358 se caracterizó en los monos cangrejeros alimentados con una dieta alta en grasa (aproximadamente 17% de manteca de cerdo y aproximadamente 25% de colesterol) durante 3 semanas, antes del tratamiento con ISIS 326358, y durante todo el estudio. ISIS 326358 se administró por vía subcutánea con dosis de 2,5, 5 o 17,5 mg/kg durante 5 semanas. Las 3 primeras dosis se proporcionaron en días alternos (dosis de carga; 7,5, 12,5 o 37,5 mg/kg/semana) y a continuación, dos veces a la semana (dosis de mantenimiento; 5 mg, 10 o 35/kg/semana).

La dieta rica en grasas aumentó el colesterol sérico aproximadamente a 400 mg/dL, con respecto al nivel de aproximadamente 150 mg/dL observado en los monos que recibieron una dieta convencional. Después del tratamiento con ISIS 326358, el colesterol LDL, la apolipoproteína B hepática (ARNm y proteína) y el colesterol total se redujeron significativamente en un 70%, 50% y 50%, respectivamente. Las reducciones en el colesterol LDL y el colesterol total eran dependientes de la dosis y del tiempo. No se observaron cambios estadísticamente significativos en la apolipoproteína B o las lipoproteínas en el grupo testigo de solución salina, en comparación con los valores previos a la dosificación. No se observaron cambios en las transaminasas hepáticas o los niveles de triglicéridos en el hígado en los monos tratados con ISIS 326358.

Resumiendo, estos datos muestran que la inhibición antisentido de la apolipoproteína B utilizando ISIS 326358 en primates que recibían una dieta alta en grasas, reduce la expresión de la apolipoproteína B hepática y disminuye significativamente el colesterol total y el colesterol LDL en el suero.

Ejemplo 3

Evaluación de ISIS 301012 en un estudio clínico en fase I

Tal y como se describe a continuación, ISIS 301012 fue sometido a ensayo con un estudio con aumento de la dosis, a doble ciego, controlado con placebo, de fase I, con el fin de evaluar la seguridad y la tolerabilidad de dosis únicas y múltiples de ISIS 301012, administradas a seres humanos por vía intravenosa y subcutánea. Además, estos estudios evaluaron el perfil farmacocinético de dosis únicas y múltiples de ISIS 301012, administrado por vía intravenosa y por vía subcutánea; y también evaluaron la farmacodinámica de ISIS 301012 administrado por vía intravenosa y subcutánea.

Para este ejemplo, se proporcionó una solución de ISIS 301012 (250 mg/mL, 0,5 mL) en solución salina estéril, sin conservar, tamponada contenida en viales de vidrio de 2 mL con tapón. El fármaco en estudio se almacenó de forma segura a 2°C a 8°C y protegido de la luz. El placebo era solución salina al 0,9%.

Diseño del estudio

Los sujetos, de 18 a 65 años de edad con niveles de colesterol total entre 200 y 300 mg/dL después de un ayuno nocturno y un índice de masa corporal (IMC) inferior a 30 kg/m², se dividieron al azar en cohortes para recibir

ES 2 401 114 T3

ISIS 301012 o placebo en una proporción de 3:1. Las cohortes de la dosificación fueron las siguientes: Cohorte A, 50 mg de ISIS 301012 o placebo; Cohorte B, 100 mg de ISIS 301012 o placebo; Cohorte C, 200 mg de ISIS 301012 o placebo; Cohorte D, 400 mg de ISIS 301012 o placebo.

- 5 El estudio consistió en un componente de dosis única (SD), seguido por un componente de dosis múltiple (MD). En el componente de dosis única, cada sujeto recibió una dosis subcutánea del fármaco del estudio, que estuvo seguida por un período de observación de 4 semanas. Los sujetos que completaron el componente de dosis única y el período de observación del estudio, continuaron con el componente de dosis múltiple del estudio. Sujetos adicionales fueron reclutados solamente para el componente de dosis múltiple del estudio. El período de dosis múltiple fue seguido por un periodo de evaluación post-tratamiento (PD).
- 10 Durante el componente de dosis múltiple, los sujetos del componente de dosis única del estudio continuaron recibiendo el fármaco del estudio (ISIS 301012 o placebo) para lo cual habían sido aleatorizados previamente. Durante la primera semana del período de tratamiento de dosis múltiple, los sujetos recibieron tres dosis intravenosas con sus respectivos niveles de dosis de las cohortes en días alternos, seguido de una sola dosis subcutánea semanal durante tres semanas. Este régimen de dosificación dio como resultado concentraciones tisulares estimadas que eran aproximadamente 70 a 80% de los niveles del estado estacionario.
- 15 El Día SD1 (día 1 del período de dosis única), se recogió sangre para un perfil de lípidos (colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, colesterol VLDL, apolipoproteína B, triglicérido, lipoproteína (a) y CRP de alta sensibilidad) después de ayunar durante una noche (al menos 12 horas). Estas mediciones representan las mediciones de referencia. El fármaco del estudio se administró a través de una inyección subcutánea (s.c.), designando tiempo 0 (t = cero) el final de la inyección. Las muestras de sangre para el análisis farmacocinético (PK) se recogieron en los momentos siguientes: 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8 y 12 horas después de la administración del fármaco del estudio. Las muestras de orina para el análisis PK fueron recogidas durante un período de 24 horas, comenzando en el tiempo 0 (t = cero) el Día SD1 y finalizando el día SD2. El día SD4, se recogieron las muestras sanguíneas para el análisis PK y el análisis del perfil de lípidos.
- 20 Los tratamientos individuales de las cohortes para el período de administración de una dosis única se resumen en la Tabla 4. Los sujetos en el grupo de placebo reciben el mismo volumen de inyección que en la cohorte a la que fueron asignados.

Tabla 4

Período de tratamiento de dosis única		
Dosis Total	Nº de Sujetos	Todas las inyecciones SQ a 250 mg/mL en SD1
Placebo	7	De acuerdo con la cohorte
50 mg	8	1 inyección, 0,2 mL
100 mg	8	1 inyección, 0,4 mL
200 mg	9	1 inyección, 0,8 mL
400 mg	4	2 inyecciones, 0,8 mL

- 30 Durante el componente de dosis múltiple, el fármaco en estudio se administró por vía intravenosa como una infusión de 2 horas, los días MD1, MD3 y MD5 de la Semana 1 y como una inyección(es) subcutánea(s) de no más de 200 mg por inyección, los días MD8, MD15 y MD22. Todos los sujetos fueron obligados a ayunar durante al menos 12 horas antes de la toma de muestras de sangre para el perfil de lípidos en MD1, MD8, MD15, MD22, MD25, PD14, PD30, y, en su caso, los días PD44, PD58, PD72 y PD86.
- 35 El día MD1 (día 1 del período de dosis múltiple), el fármaco del estudio se administró mediante infusión intravenosa durante 2 horas (i.v.), designando el inicio de la infusión tiempo 0 (t = cero). Las muestras de sangre para el análisis farmacocinético (PK) se recogieron 0,5, 1, 2, 2,25, 2,5, 3, 4, 6 y 8 horas después de comenzar la infusión del fármaco del estudio. La toma de muestras PK durante 2 horas se realizó justo antes de finalizar la infusión del fármaco del estudio. Además, se realizó una recogida de muestras de orina durante 24 horas, empezando en el tiempo 0 (t = cero) para el análisis PK.
- 40 Los días MD3 y MD5, el fármaco del estudio se administró mediante infusión intravenosa y se recogieron muestras de sangre para el análisis PK, 5 minutos antes del comienzo de la infusión del fármaco del estudio y 2 horas después del comienzo de la infusión del fármaco del estudio.
- 45 Los días MD2, MD4, MD6, se recogieron muestras de sangre para PK, 24 horas después del inicio de la infusión del fármaco del estudio.
- Los días MD8, MD15, el fármaco en estudio se administró por inyección subcutánea. Se recogieron muestras de sangre para el análisis PK y muestras de orina para el análisis de orina.

El día MD22, el fármaco del estudio se administró mediante inyección subcutánea. Las muestras de sangre para el análisis PK se recogieron antes y 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, y 12 horas después de la administración del fármaco del estudio. Una muestra de orina para análisis de orina se recogió durante un período de 24 horas, comenzando en el momento de la dosificación el día MD22 y terminando el día MD23.

- 5 El día MD23, se recogieron muestras de sangre para PK, 24 horas después de la dosificación del fármaco en estudio del día MD22.

El día MD25, 3 días después de la dosis final del día MD22, las muestras de sangre se recogieron para el análisis PK.

- 10 En la Tabla 5 se muestra un resumen del régimen de dosificación para el período de dosis múltiple. Los grupos de 50 mg y 200 mg tenía cada uno un sujeto menos que durante el período de dosis única. Los sujetos en el grupo de placebo reciben el mismo volumen de inyección que en la cohorte a la que fueron asignados.

Tabla 5

Periodo de tratamiento de dosis múltiple

Dosis	Nº de Sujetos	Semana de carga - cada 2 horas infusiones I.V.			Dosificación una vez a la semana - inyecciones SQ a 250 mg/mL		
		MD1	MD3	MD5	MD8	MD15	MD22
Placebo	7	N/A	N/A	N/A	De acuerdo con la cohorte		
50 mg	7	50 mg	50 mg	50 mg	1 iny., 0,2 mL	1 iny., 0,2 mL	1 iny., 0,2 mL
100 mg	8	100 mg	100 mg	100 mg	1 iny., 0,4 mL	1 iny., 0,4 mL	1 iny., 0,4 mL
200 mg	8	200 mg	200 mg	200 mg	1 iny., 0,8 mL	1 iny., 0,8 mL	1 iny., 0,8 mL
400 mg	2	400 mg	400 mg	400 mg	2 iny., 0,8 mL	2 iny., 0,8 mL	2 iny., 0,8 mL

- 15 Durante el período de evaluación posterior al tratamiento, los días PD14 (o PD39, 39 días desde MD1), y PD30 (o PD55, 55 días desde MD1), se tomaron muestras de sangre para el perfil lipídico y el análisis PK. En todos los sujetos que habían ayunado, los niveles totales de colesterol en suero eran menores o iguales al 90% de sus valores de referencia en PD30, y continuaron en un período de seguimiento prolongado. Las mediciones en ayunas del perfil lipídico se realizaron cada 2 semanas hasta PD86 (o PD111, 111 días después de MD1) o hasta que los niveles totales de colesterol en suero volvieron a ser superiores al 90% del valor de referencia. Los días PD44 PD58, PD72 y PD86 (o PD69, PD83, PD97 y PD111, respectivamente), las muestras de sangre se recogieron para el perfil lipídico y el análisis PK.

Análisis farmacodinámico

- 25 Los efectos farmacodinámicos de ISIS 301012 se evaluaron comparando los niveles de lípidos de los parámetros lipídicos al inicio del tratamiento con los de después de la dosis múltiple de ISIS 301012; estos datos se muestran en las tablas siguientes. Los datos se presentan como cambio porcentual medio desde el valor de referencia, en donde el valor de referencia es la medición de los parámetros lipídicos respectivos realizada el primer día de la primera dosis administrada del fármaco en estudio, que era o bien el primer día del período de tratamiento de dosis única (SD1) o el primer día del período de tratamiento de dosis múltiple (MD1).

- 30 El colesterol total, el colesterol LDL, el colesterol HDL y los triglicéridos se midieron mediante procedimientos clínicos rutinarios de MDS Pharma Services (Belfast, Irlanda). Los niveles de apolipoproteína B y lipoproteína (a) se midieron mediante procedimientos rutinarios de laboratorio clínico de MDS Pharma Services (Belfast, Irlanda). Los datos se presentan en las tablas a continuación como el cambio porcentual medio en relación con los valores de referencia de SD1 (Tablas 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 y 19) o MD1 (Tablas 7, 9, 11, 13, 15, 17 y 21). La media representa el promedio de los datos de 5 sujetos en la cohorte de placebo, de 3 sujetos en la cohorte de 50 mg, de 3 sujetos en la cohorte de 100 mg, de 6 a 7 sujetos en la cohorte de 200 mg y de 2 sujetos en la cohorte de 400 mg.

- 40 El valor de referencia para el que los datos fueron normalizados está indicado para cada tabla. Los valores de referencia se fijaron en 100%, y los valores por encima o por debajo del 100% indican un aumento o una disminución, respectivamente, en el parámetro lipídico medido. Los datos se presentan para las mediciones de parámetros lipídicos realizadas durante los períodos de dosis múltiple, por ejemplo, MD8 indica una medición realizada 8 días después de la administración de la primera dosis durante los períodos de dosis múltiple. También se muestran los datos de las mediciones de parámetros lipídicos realizadas durante el período de evaluación posterior al tratamiento, por ejemplo, una medición del día PD39 se hizo el 14º día del periodo de evaluación posterior al tratamiento, que es equivalente a 39 días después de la primera administración de la primera dosis durante el

período de dosis múltiple. Cuando está presente, "ND" indica que la medición particular es "no determinada". Los análisis de otros biomarcadores séricos no mostraron ninguna tendencia de eventos clínicos adversos, incluida la ausencia de cambios en el recuento de glóbulos blancos, el recuento de plaquetas o la función renal. Además, no se observó ninguna toxicidad después de la administración de ISIS 301012.

- 5 Colesterol LDL. Las mediciones de colesterol LDL, mostradas en las Tablas 6 y 7, revelaron reducciones en esta lipoproteína en las cohortes de 100 mg, 200 mg y 400 mg, durante todo el período de dosis múltiple. Por ejemplo, en la Tabla 6, el día MD25, los niveles medios de colesterol LDL eran 73%, 66% y 60% de los valores de referencia en las cohortes de 100 mg, 200 mg y 400 mg, respectivamente. Se observaron efectos en la cohorte de 400 mg, en donde los niveles de colesterol LDL se redujeron hasta en un 39% (61% del valor de referencia de MD1, el día MD22) o 45% (55% del valor de referencia de SD1, el día MD15). Además, una reducción en el colesterol LDL se observó el día PD83 en la cohorte de 100 mg, aproximadamente 2 meses después de la administración de la dosis final de ISIS 301012.

Tabla 6

Porcentaje medio de colesterol LDL del valor de referencia (SD1)					
	Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD1	99	120	89	83	91
MD8	99	99	75	83	79
MD15	100	106	63	68	61
MD22	94	109	69	65	55
MD25	92	108	73	66	60
PD39	87	ND	68	58	ND
PD55	96	95	69	58	ND
PD83	ND	ND	78	ND	ND

15

Tabla 7

Porcentaje medio de colesterol LDL del valor de referencia (MD1)					
	Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	100	83	84	92	87
MD15	102	89	70	75	67
MD22	96	92	78	72	61
MD25	93	90	82	73	66
PD39	88	ND	76	64	ND
PD55	97	79	78	64	ND
PD83	ND	ND	87	ND	ND

- 20 **Apolipoproteína B.** En las mediciones de apolipoproteína B en suero, que se muestran en las Tablas 8 y 9, se observó una reducción dependiente de la dosis de esta apolipoproteína, especialmente en las cohortes de 100 mg, 200 mg y 400 mg. Las reducciones de apolipoproteína B en suero se mantuvieron hasta el día PD111 en las cohortes de 100 mg y 200 mg, aproximadamente 3 meses después de la administración de la dosis final de ISIS 301012. Las reducciones fueron tan elevadas como 56% o 52% (o 44% del valor de referencia de SD1 el día MD22 o 48% del valor de referencia de MD1 el día MD22, respectivamente) en la cohorte de 400 mg; una reducción similar en el porcentaje medio en relación con el valor de referencia de SD1, se observó el día PD83. Además, los efectos prolongados también se observaron en las cohortes de 100 mg y 200 mg, en donde los niveles de apolipoproteína B sérica fueron de 90% y 79%, respectivamente, de los valores de referencia de SD1 el día PD111, aproximadamente 3 meses después de la administración de la dosis final de ISIS 301012.

Tabla 8

Porcentaje medio de apolipoproteína B del valor de referencia (SD1)					
	Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD1	111	111	90	99	92
MD8	113	86	80	94	76
MD15	109	100	67	66	56
MD22	102	89	80	63	44
MD25	98	89	90	44	52
PD39	115	89	80	58	48
PD55	104	86	80	53	52
PD69	ND	ND	ND	61	52
PD83	ND	ND	90	69	56
PD97	ND	ND	90	72	ND
PD111	ND	ND	90	79	ND

Tabla 9

Porcentaje medio de apolipoproteína B del valor de referencia (MD1)					
	Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	102	77	89	96	83
MD15	98	90	74	67	61
MD22	92	81	89	64	48
MD25	88	81	100	45	57
PD39	104	81	89	58	52
PD55	94	77	89	53	57
PD69	ND	62	ND	62	57
PD83	ND	70	100	70	61
PD97	ND	73	100	73	ND
PD111	ND	80	100	80	ND

- 5 **Colesterol Total.** El análisis del colesterol total mostró una reducción en el cambio porcentual medio desde el valor de referencia, si los datos se normalizaron frente a SD1 (Tabla 10) o MD1 (Tabla 11). Por ejemplo, en MD1, MD8, MD15, MD22 y MD25, el colesterol total medio en la cohorte de 200 mg se redujo en 97%, 89%, 74%, 71% y 76% de los valores de referencia de SD1. Además, estos efectos se mantuvieron después del cese de la dosificación, el día MD22. Por ejemplo, en la cohorte de 200 mg, el colesterol total medio era de 88% de los valores de referencia de SD1, en PDL111, aproximadamente 3 meses después de la administración de la
- 10 dosis final de ISIS 301012.

Tabla 10

Porcentaje medio de colesterol total del valor de referencia (SD1)					
	Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD1	103	113	87	97	88
MD8	103	93	88	89	79
MD15	104	96	75	74	63
MD22	99	103	76	71	60
MD25	98	97	89	76	63
PD39	109	100	85	70	61
PD55	114	105	90	74	68
PD69	ND	ND	84	69	62
PD83	ND	ND	95	78	ND
PD97	ND	ND	96	78	ND
PD111	ND	ND	105	88	ND

Tabla 11

Porcentaje medio de colesterol total del valor de referencia (MD1)					
	Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	101	83	101	91	90
MD15	102	85	86	76	72
MD22	97	91	88	73	68
MD25	96	86	102	78	72
PD39	106	89	98	72	69
PD55	111	93	103	75	78
PD69	ND	ND	97	71	70
PD83	ND	ND	109	80	ND
PD97	ND	ND	110	80	ND
PD111	ND	ND	120	91	ND

Colesterol HDL. Tal y como se muestra en las Tablas 12 y 13, estos datos muestran algunos cambios en el colesterol HDL en la cohorte de 400 mg, sin embargo, en las cohortes de 50 mg, 100 y 200 mg, los cambios en el colesterol HDL no fueron de forma señalada. Los niveles de colesterol HDL se incrementaron en la cohorte de 100 mg, en relación con el valor de referencia del día MD1.

5

10

Tabla 12

Porcentaje medio de colesterol HDL del valor de referencia (SD1)					
	Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD1	101	102	92	102	87
MD8	94	78	102	91	71
MD15	95	92	91	96	67
MD22	103	99	102	104	87
MD25	103	100	109	102	94
PD39	103	ND	99	102	ND
PD55	99	98	101	106	ND

Tabla 13

Porcentaje medio de colesterol HDL del valor de referencia (MD1)					
	Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	93	76	110	89	82
MD15	94	90	98	94	77
MD22	102	96	110	102	100
MD25	102	98	118	100	108
PD39	114	ND	108	99	ND
PD55	98	96	109	104	ND

Triglicérido. Los niveles de triglicéridos, que se muestran en las Tablas 14 y 15, se redujeron mediante la administración de ISIS 301012 en las cohortes de 100 mg, 200 mg y 400 mg. Tal y como se muestra en la Tabla 14, en las cohortes de 100 mg y 200 mg, la reducción de triglicéridos se logró en MD8 y MD15, respectivamente, y se mantuvo hasta el día PD55, aproximadamente 1 mes después de la administración de la dosis final de ISIS 301012.

Tabla 14

Porcentaje medio de triglicérido del valor de referencia (SD1)					
	Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD1	148	100	110	121	103
MD8	153	180	81	107	105
MD15	157	103	91	94	87
MD22	122	89	87	90	91
MD25	109	100	83	91	64
PD39	129	ND	70	83	ND
PD55	96	115	92	66	ND

Tabla 15

Porcentaje medio de triglicérido del valor de referencia (MD1)					
	Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	103	180	73	89	102
MD15	106	103	82	78	85
MD22	82	89	79	75	89
MD25	74	100	75	75	62
PD39	87	ND	64	69	ND
PD55	65	115	83	55	ND

5 **Lipoproteína (a).** Los niveles de lipoproteína (a) en suero, que se muestran en las Tablas 16 y 17, se redujeron después del tratamiento con ISIS 301012. Por ejemplo, en la cohorte de 400 mg, la lipoproteína (a) se redujo durante el período de dosis múltiple, hasta 71%, 83%, 76% y 84% del valor de referencia de SD1, o 66%, 85%, 70% y 72% del valor de referencia de MD1, los días MD8, MD15, MD22 y MD25, respectivamente. Las reducciones de aproximadamente 12% a 15% (normalizadas frente al valor de referencia de SD1 o MD1) se mantuvieron hasta el día PD55 en las cohortes de 100 mg y 200 mg, aproximadamente un mes después de la administración de la dosis final de ISIS 301012.

10

Tabla 16

Porcentaje medio de lipoproteína (a) del valor de referencia (SD1)					
	Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD1	104	130	99	97	108
MD8	93	99	107	109	71
MD15	100	103	84	89	93
MD22	104	95	75	82	76
MD25	111	109	90	84	78
PD39	140	ND	93	88	ND
PD55	122	97	88	85	ND

Tabla 17

Porcentaje medio de lipoproteína (a) del valor de referencia (MD1)					
	Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	89	76	108	112	66
MD15	96	79	84	91	85
MD22	100	74	75	84	70
MD25	106	84	91	86	72
PD39	134	ND	94	91	ND
PD55	118	75	88	87	ND

15 **Proporción de colesterol:HDL.** Tal y como se muestra en la Tabla 18, se calcularon las proporciones de colesterol total a colesterol HDL, mostrando una mejora en estas proporciones, que es un efecto clínicamente deseable. Una disminución de las proporciones en relación con los valores de referencia se observó, por ejemplo, en la cohorte de 200 mg, a partir del día MD8 que persistió hasta PD55. Las mejoras en la proporción de colesterol total frente a colesterol HDL también se observaron en las cohortes de 100 mg y 400 mg.

20

Tabla 18

Proporción de colesterol total:HDL, porcentaje medio del valor de referencia (SD1)					
	Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	109	123	91	97	106
MD15	112	101	86	80	91
MD22	100	93	87	74	63
MD25	95	91	85	75	64
PD39	95	ND	91	69	ND
PD55	108	97	90	68	ND

5 **Colesterol LDL frente a colesterol HDL.** Tal y como se muestra en la Tabla 19, la reducción clínicamente deseable en la proporción de LDL:HDL se observó en las cohortes de 100 mg, 200 mg y 400 mg durante el período de tratamiento de dosis múltiple. Estas reducciones persistieron hasta el día PD55 en las cohortes de 100 mg y 200 mg, día en que las proporciones eran de 68% y 55%, respectivamente, de los valores de referencia de SD1.

Tabla 19

Proporción de LDL:HDL, porcentaje medio del valor de referencia (SD1)					
	Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	102	130	74	88	100
MD15	109	116	68	68	82
MD22	95	103	70	62	54
MD25	88	101	67	63	55
PD39	81	ND	69	55	ND
PD55	93	97	68	55	ND

10

15 **Colesterol VLDL.** Tal y como se muestra en las tablas 20 y 21, se observó que los niveles de colesterol VLDL se reducían en todas las cohortes en relación con el valor de referencia, el día MD1 y en las cohortes de 100 mg, 200 mg y 400 mg en relación con el valor de referencia, el día SD1. Por ejemplo, el día MD25, el colesterol VLDL en la cohorte de 200 mg, se redujo a 63% del valor de referencia de MD1, y estos efectos persistieron hasta el día del estudio PD55, momento en el cual los niveles de colesterol VLDL eran el 49% del valor de referencia del día MD1. Se observaron reducciones sostenidas del colesterol VLDL hasta el día PD55 en las cohortes de 100 y 200 mg, normalizadas frente a los valores de referencia de los días SD1 o MD1.

Tabla 20

Porcentaje medio de colesterol VLDL del valor de referencia (SD1)					
	Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD1	144	125	106	122	84
MD8	149	222	79	101	88
MD15	153	118	90	87	62
MD22	122	103	91	83	70
MD25	106	121	87	77	44
PD39	126	ND	83	77	ND
PD55	87	127	86	60	ND

20

Tabla 21

Porcentaje medio de colesterol VLDL del valor de referencia (MD1)					
	Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	104	178	74	83	106
MD15	107	95	85	71	74
MD22	85	82	86	68	83
MD25	74	97	82	63	52
PD39	88	ND	78	63	ND
PD55	60	102	81	49	ND

Efectos farmacodinámicos con análisis estadístico

5 En las Tablas 22 a 43 se resumen los parámetros lipídicos evaluados en 7 sujetos que recibieron placebo, y 8, 8, 9 y 4 sujetos que recibieron 50 mg, 100 mg, 200 mg y 400 mg de ISIS 301012, respectivamente. En las tablas del resumen se presentan los niveles medios de cada parámetro lipídico, por ejemplo, mg/dL de colesterol LDL, por cohorte de dosis. La segunda tabla mostrada para cada parámetro lipídico es la tabla de Cambio Porcentual, y representa el cambio porcentual medio desde el valor de referencia para cada cohorte, por ejemplo, significa el cambio porcentual el día MD25 en relación con el valor de referencia. "El "día del estudio" indica el día del estudio en el que se midió el parámetro lipídico, por ejemplo, colesterol LDL. La medición del "valor de referencia" es el nivel del parámetro lipídico, por ejemplo, colesterol LDL, antes de la dosis inicial de ISIS 301012, el día del estudio SD1. Si una medición de SD1 no estaba disponible, se utilizó en su lugar una medición de MD1. "MD" indica una medición tomada durante el período de dosis múltiple, por ejemplo, MD15 es el 15º día del período de dosis múltiple. El período de dosis múltiple tuvo una duración de 25 días, con lo que la medición del MD25 es de una muestra tomada el día de la última dosis del fármaco en estudio. "PD" es una medición tomada durante el periodo de evaluación posterior al tratamiento. Por ejemplo, PD39 es una medición tomada 14 días después de la dosis final, que es equivalente a 39 días después de la primera dosis del período de dosis múltiple. "N" indica el número de muestras usadas en el cálculo de los niveles medios y la mediana; N para las mediciones realizadas durante los periodos de MD o PD puede ser menor que N en el valor de referencia. "Std" es la desviación estándar. Los valores de P se aplican a la diferencia entre las medias en los grupos de dosificación y las medias en el grupo placebo, y se determinaron usando la prueba de Wilcoxon de suma de rangos de prueba. "NC" indica un nivel de parámetro lipídico o un valor de P que no se calculó.

25 **Colesterol LDL.** La Tabla 22 contiene el resumen de los niveles de colesterol LDL, en donde los niveles se muestran en mg/dL. Los cambios porcentuales medios y las medianas de colesterol LDL, con respecto a los valores de referencia, se presentan en la Tabla 23. Se observaron reducciones prolongadas y dependientes de la dosis en los niveles séricos de colesterol LDL. El porcentaje de reducción máximo del colesterol LDL fue de aproximadamente 35% para el grupo de 200 mg y de aproximadamente 48% para el grupo de 400 mg (Tabla 23). La reducción del colesterol LDL persistió, permaneciendo por debajo del valor de referencia durante 90 días en 50% de los sujetos en el grupo de 200 mg.

Tabla 22

Resumen del nivel de colesterol LDL, mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
Valor de referencia	N	7	8	8	9	4
	Media	131	126	131	123	133
	Mediana	123	118	136	121	130
	Std	27	24	24	16	23
	Mín - Máx	95 - 171	100 - 173	91 - 160	103 - 153	109 - 164
	Valor de P		0,7789	1	0,6597	0,7879
MD8	N	7	7	8	8	2
	Media	126	118	119	105	105
	Mediana	121	116	111	102	105

ES 2 401 114 T3

Resumen del nivel de colesterol LDL, mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Std	19	17	25	14	14
	Mín - Máx	107 - 160	104 - 155	94 - 164	88 - 126	95-115
	Valor de P		0,197	0,414	0,0401	0,2222
MD15	N	7	8	8	8	2
	Media	132	124	101	85	82
	Mediana	116	121	99	86	82
	Std	29	20	29	14	21
	Mín - Máx	109 - 175	99 - 166	59 - 151	67 - 107	67 - 96
	Valor de P		0,9302	0,0774	0,0003	0,0556
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	124	125	102	82	74
	Mediana	112	125	98	85	74
	Std	29	15	20	11	5
	Mín - Máx	93 - 167	96 - 149	79 - 144	58 - 92	70 - 77
	Valor de P		0,4443	0,0881	0,0003	0,0556
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	122	128	105	83	80
	Mediana	115	121	102	86	80
	Std	32	16	16	13	6
	Mín - Máx	76 - 170	117 - 163	84 - 139	54 - 95	76 - 84
	Valor de P		0,143	0,128	0,0126	0,1389
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	128	119	106	77	79
	Mediana	118	115	98	81	79
	Std	22	17	24	18	1
	Mín - Máx	107 - 160	103 - 155	90 - 158	51 - 107	78 - 80
	Valor de P		0,4797	0,0362	0,0005	0,0556
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	127	117	103	79	85
	Mediana	120	114	96	82	85
	Std	25	16	25	17	13
	Mín - Máx	103 - 179	100 - 151	72 - 154	59 - 114	76 - 94
	Valor de P		0,3357	0,0376	0,0009	0,0556
PD69	N	2	2	5	7	2
	Media	127	111	106	85	84
	Mediana	127	111	105	87	84
	Std	24	25	23	7	7
	Mín - Máx	110 - 144	93 - 128	81 - 141	73 - 93	79 - 89
	Valor de P		0,6667	0,381	0,0278	0,3333
PD83	N	2	3	7	8	2

ES 2 401 114 T3

Resumen del nivel de colesterol LDL, mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Media	144	115	108	92	99
	Mediana	144	111	106	92	99
	Std	40	25	23	12	2
	Mín - Máx	116 - 172	92 - 141	73 - 150	72 - 115	97 - 100
	Valor de P		0,4	0,2222	0,0444	0,3333
PD97	N	0	2	5	8	0
	Media	NC	114	111	95	NC
	Mediana	NC	114	116	95	NC
	Std	NC	21	36	10	NC
	Mín - Máx	NC	99 - 128	65 - 160	75 - 109	NC
PD111	N	0	1	2	6	0
	Media	NC	90	121	101	NC
	Mediana	NC	90	121	100	NC
	Std	NC	NC	13	11	NC
	Mín - Máx	NC	90 - 90	112 - 130	85 - 119	NC

Tabla 23

Resumen del nivel de colesterol LDL, % de cambio desde el valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	N	7	7	8	8	2
	Media	-2	-8	-8	-14	-27
	Mediana	1	-8	-14	-14	-27
	Std	16	7	15	10	5
	Mín - Máx	-20 - 27	-19 - 2	-23 - 20	-27 - 3	-30 - -23
	Valor de P		0,6200	0,3357	0,1893	0,0556
MD15	N	7	8	8	8	2
	Media	1	-0,2	-23	-29	-44
	Mediana	4	-3	-24	-26	-44
	Std	11	13	19	17	3
	Mín - Máx	-19 - 16	-14 - 29	-46 - 9	-50 - -7	-46 - -43
	Valor de P		0,5358	0,0205	0,0022	0,0556
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	-5	1	-21	-32	-48
	Mediana	-2	-2	-23	-28	-48
	Std	12	15	12	15	7
	Mín - Máx	-31 - 7	-14 - 25	-33 - 0,0	-52 - -11	-53 - -44
	Valor de P		0,8665	0,0289	0,0037	0,0556
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	-6	3	-19	-31	-44
	Mediana	-4	1	-20	-26	-44

ES 2 401 114 T3

Resumen del nivel de colesterol LDL, % de cambio desde el valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Std	19	16	11	16	7
	Mín - Máx	-43 - 21	-15 - 37	-32 - 2	-55 - -12	-49 - -39
	Valor de P		0,6126	0,0939	0,0093	0,1111
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	-1	-4	-19	-35	-44
	Mediana	-3	-8	-18	-35	-44
	Std	13	16	14	19	10
	Mín - Máx	-19 - 20	-21 - 30	-36 - -1	-67 - -7	-51 - -37
	Valor de P		0,6126	0,0721	0,0022	0,0556
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	-1	-6	-20	-34	-41
	Mediana	5	-7	-23	-37	-41
	Std	15	8	17	19	3
	Mín - Máx	-18 - 21	-15 - 9	-40 - 10	-58 - -1	-43 - -39
	Valor de P		0,8665	0,0939	0,0022	0,0556
PD69	N	2	2	5	7	2
	Media	4	-13	-18	-29	-41
	Mediana	4	-13	-17	-24	-41
	Std	18	14	9	12	7
	Mín - Máx	-8 - 17	-23 - -3	-33 - -11	-48 - -16	-46 - -36
	Valor de P		0,6667	0,0952	0,0556	0,3333
PD83	N	2	3	7	8	2
	Media	-1	-1	-19	-24	-30
	Mediana	-1	-4	-20	-18	-30
	Std	3	16	8	15	12
	Mín - Máx	-3 - 0,6	-15 - 17	-26 - -6	-45 - -6	-39 - -22
	Valor de P		0,8000	0,0556	0,0444	0,3333
PD97	N	0	2	5	8	0
	Media	NC	2	-15	-21	NC
	Mediana	NC	2	-18	-16	NC
	Std	NC	14	11	13	NC
	Mín - Máx	NC	-8 - 11	-29 - 0	-46 - -11	NC
	Valor de P	0	1	2	6	0
PD111	N	NC	-17	7	-19	NC
	Media	NC	-17	7	-19	NC
	Mediana	NC	0	23	8	NC
	Std	NC	-17 - -17	-9 - 23	-30 - -6	NC
	Mín - Máx	7	7	8	8	2
	Valor de P	-2	-8	-8	-14	-27

5 **Apolipoproteína B.** En las Tablas 24 y 25 se muestran los niveles séricos medios de apolipoproteína B por cohorte y el porcentaje medio del valor de referencia por cohorte, respectivamente. La administración de ISIS 301012 dio como resultado una reducción prolongada, dependiente de la dosis, de los niveles en suero de apolipoproteína B. El grupo de dosis de 200 mg mostró una reducción máxima del 50%, respecto al valor de referencia (Tabla 25), el MD25, 72 horas después de la dosis final. Los niveles reducidos de apolipoproteína B permanecieron por debajo del valor de referencia durante 90 días después del tratamiento, en el 75% de los sujetos con 200 mg. Debido al efecto prolongado de ISIS 301012, los niveles séricos de apolipoproteína B se midieron el día PD125 y PD139 en 2 sujetos y 1 sujeto, respectivamente. El día PD125, la media y la mediana de los niveles séricos de apolipoproteínas B para 2 sujetos de la cohorte de 200 mg, eran de 90 mg/dL (Std = 28), lo que representa un cambio de -17% respecto al valor de referencia (Std = 12). El día PD139, la apolipoproteína B total en suero de 1 sujeto era de 86 mg/dL, lo que representa un cambio de -28% respecto al valor de referencia.

Tabla 24

Resumen de los niveles de apolipoproteína B, mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
Valor de referencia	N	7	8	8	9	4
	Media	102	101	105	101	113
	Mediana	93	101	99	98	110
	Std	22	20	22	17	27
	Mín - Máx	84 - 147	77 - 142	68 - 141	76 - 133	86 - 145
	Valor de P		0,9312	0,2671	0,4684	0,4939
MD8	N	7	8	8	8	2
	Media	107	86	95	93	90
	Mediana	105	83	83	89	90
	Std	18	24	24	15	21
	Mín - Máx	86 - 132	56 - 136	75 - 142	76 - 117	75 - 105
	Valor de P		0,058	0,1807	0,152	0,3889
MD15	N	7	8	8	8	3
	Media	103	94	78	67	70
	Mediana	94	89	71	69	70
	Std	28	20	21	13	16
	Mín - Máx	68 - 143	72 - 138	57 - 122	47 - 84	54 - 86
	Valor de P		0,2939	0,0323	0,0034	0,0583
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	99	91	82	66	56
	Mediana	93	89	77	70	56
	Std	23	16	20	11	6
	Mín - Máx	76 - 143	65 - 118	63 - 124	41 - 76	52 - 60
	Valor de P		0,6943	0,113	0,0005	0,0556
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	94	87	87	50	66
	Mediana	95	84	87	51	66
	Std	22	10	18	16	6
	Mín - Máx	67 - 123	74 - 106	61 - 122	21 - 73	61 - 70
	Valor de P		0,4634	0,5358	0,0012	0,1111
PD39	N	7	8	8	8	2

ES 2 401 114 T3

Resumen de los niveles de apolipoproteína B, mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Media	102	86	81	61	59
	Mediana	101	82	79	62	59
	Std	19	12	23	13	4
	Mín - Máx	66 - 120	78 - 113	51 - 126	43 - 81	56 - 61
	Valor de P		0,0503	0,0774	0,002	0,0556
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	86	86	76	57	62
	Mediana	95	81	72	58	62
	Std	21	19	25	9	8
	Mín - Máx	44 - 100	59 - 113	53 - 131	41 - 72	56 - 67
	Valor de P		0,7573	0,2319	0,0166	0,2222
PD69	N	3	5	5	7	2
	Media	109	90	74	62	64
	Mediana	112	86	75	61	64
	Std	20	26	24	7	10
	Mín - Máx	88 - 127	70 - 133	39 - 106	50 - 70	57 - 71
	Valor de P		0,2857	0,0714	0,0083	0,2
PD83	N	2	4	7	8	2
	Media	120	96	72	67	70
	Mediana	120	88	76	68	70
	Std	28	25	28	11	10
	Mín - Máx	100 - 139	76 - 131	30 - 104	47 - 85	63 - 77
	Valor de P		0,2667	0,1111	0,0444	0,3333
PD97	N	0	2	4	8	1
	Media	NC	96	90	72	81
	Mediana	NC	96	88	74	81
	Std	NC	8	42	12	NC
	Mín - Máx	NC	90 - 101	45 - 139	56 - 85	81 - 81
PD111	N	0	1	3	6	2
	Media	NC	76	81	77	95
	Mediana	NC	76	87	74	95
	Std	NC	NC	14	14	21
	Mín - Máx	NC	76 - 76	65 - 90	66 - 105	80-110

Tabla 25

Apolipoproteína B, % de cambio desde el valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	N	7	8	8		2
	Media	7	-14	-9	-8	-24
	Mediana	11	-13	-11	-7	-24
	Std	12	22	14	12	5
	Mín - Máx	-10 - 24	-46 - 17	-24 - 19	-27 - 10	-28 - -21
	Valor de P		0,0721	0,0401	0,0401	0,0556
MD15	N	7	8	8	8	3
	Media	1	-6	-25	-32	-43
	Mediana	1	-4	-28	-32	-43
	Std	14	14	13	18	2
	Mín - Máx	-24 - 21	-27 - 14	-41 - -2	-61 - -14	-44 - -41
	Valor de P		0,3969	0,0059	0,0022	0,0167
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	-3	-9	-22	-34	-52
	Mediana	0	□10	-20	-33	-52
	Std	10	11	11	16	9
	Mín - Máx	-16 - 10	-23 - 7	-43 - -7	-56 - -11	-59 - -45
	Valor de P		0,1893	0,0037	0,0012	0,0556
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	-7	-13	-16	-50	-44
	Mediana	-3	-11	-12	-50	-44
	Std	16	12	13	17	11
	Mín - Máx	-28 - 14	-32 - 8	-37 - 3	-78 - -26	-52 - -36
	Valor de P		0,4634	0,281	0,0006	0,0556
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	2	-14	-22	-39	-50
	Mediana	4	-16	-19	-37	-50
	Std	21	9	15	18	12
	Mín - Máx	-26 - 37	-26 - 3	-57 - -10	-61 - -17	-58 - -41
	Valor de P		0,0939	0,0541	0,0059	0,0556
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	-11	-14	-28	-42	-47
	Mediana	4	-16	-22	-45	-47
	Std	29	13	15	14	9
	Mín - Máx	-70 - 12	-33 - 4	-49 - -7	-59 - -21	-54 - -41
	Valor de P		0,1893	0,0541	0,0205	0,2222
PD69	N	3	5	5	7	2
	Media	6	-16	-34	-38	-46
	Mediana	-1	-11	-34	-40	-46

Apolipoproteína B, % de cambio desde el valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Std	24	16	7	12	8
	Mín - Máx	-14 - 33	-33 - 4	-43 - -25	-55 - -20	-51 - -40
	Valor de P		0,3929	0,0357	0,0167	0,2
PD83	N	2	4	7	8	2
	Media	4	-12	-31	-33	-40
	Mediana	4	-9	-21	-34	-40
	Std	13	13	26	16	9
	Mín - Máx	-5 - 12	-30 - 0	-67 - -5	-52 - -8	-47 - -34
	Valor de P		0,2667	0,1111	0,0444	0,3333
PD97	N	0	2	4	8	1
	Media	NC	3	-19	-28	-15
	Mediana	NC	3	-20	-25	-15
	Std	NC	27	15	14	
	Mín - Máx	NC	-17 - 22	-34 - -1	-58 - -13	-15 - -15
PD111	N	0	1	3	6	2
	Media	NC	-30	-3	-23	-20
	Mediana	NC	-30	-8	-25	-20
	Std	NC		33	16	6
	Mín - Máx	NC	-30 - -30	-32 - 32	-48 - -3	-24 - -16

Colesterol Total. Los niveles medios del colesterol total y el porcentaje medio del valor de referencia se muestran en las Tablas 26 y 27, respectivamente. Las reducciones medias máximas observadas fueron de 27% en el grupo de 200 mg y de 40% en el grupo de 400 mg (Tabla 27). Debido a los efectos prolongados de ISIS 301012, los niveles de colesterol total en suero se midieron el día PD125 en 2 sujetos y el día PD139 en 1 sujeto. El día PD125, la media y la mediana de los niveles séricos de colesterol total para 2 sujetos de la cohorte de 200 mg eran de 170 mg/dL (Std = 16), lo que representa un cambio de -17% respecto al valor de referencia (Std = 6). El día PD139, el colesterol total en suero de 1 sujeto era de 193 mg/dL, lo que representa un cambio de -7% respecto al valor de referencia.

Tabla 26

Resumen del nivel de colesterol total, mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
Valor de referencia	N	7	8	8	9	4
	Media	216	221	218	211	239
	Mediana	213	217	220	201	240
	Std	33	33	24	18	30
	Mín - Máx	174 - 271	186 - 290	182 - 251	193 - 244	201 - 275
	Valor de P		0,9324	0,8056	0,7378	0,2182
MD8	N	7	8	8	8	2
	Media	214	205	201	187	203
	Mediana	209	195	199	182	203
	Std	18	29	29	22	14
	Mín - Máx	190 - 240	166 - 255	155 - 251	166 - 232	193-213

ES 2 401 114 T3

Resumen del nivel de colesterol total, mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Valor de P		0,285	0,1961	0,0126	0,6389
MD15	N	7	8	8	8	2
	Media	220	212	177	160	174
	Mediana	217	211	182	159	174
	Std	24	35	33	27	16
	Mín - Máx	193 - 259	170 - 282	135 - 240	120 - 197	162 - 186
	Valor de P		0,4848	0,0071	0,0006	0,0556
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	211	214	173	151	155
	Mediana	201	219	172	153	155
	Std	37	23	25	20	6
	Mín - Máx	159 - 263	166 - 240	139 - 220	124 - 178	151 - 159
	Valor de P		0,8005	0,0266	0,0022	0,0833
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	211	217	188	160	162
	Mediana	209	209	191	157	162
	Std	39	26	24	22	6
	Mín - Máx	143 - 271	186 - 267	143 - 224	120 - 190	159 - 166
	Valor de P		0,8838	0,1125	0,0099	0,2222
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	230	218	190	153	157
	Mediana	224	213	190	164	157
	Std	27	28	25	27	14
	Mín - Máx	197 - 263	186 - 275	162 - 244	104 - 178	147 - 166
	Valor de P		0,4127	0,0047	0,0002	0,0556
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	235	224	185	161	176
	Mediana	228	220	186	168	176
	Std	31	26	28	26	3
	Mín - Máx	201 - 298	193 - 275	132 - 232	128 - 190	174 - 178
	Valor de P		0,3804	0,0044	0,0003	0,0556
PD69	N	3	5	7	7	2
	Media	241	222	193	154	159
	Mediana	248	209	186	155	159
	Std	26	58	24	21	11
	Mín - Máx	213 - 263	166 - 313	162 - 240	128 - 178	151 - 166
	Valor de P		0,3929	0,025	0,0167	0,2
PD83	N	2	4	7	8	2
	Media	259	226	201	168	182
	Mediana	259	219	201	172	182

ES 2 401 114 T3

Resumen del nivel de colesterol total, mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Std	33	50	27	25	16
	Mín - Máx	236 - 282	174 - 294	170 - 251	132 - 209	170 - 193
	Valor de P		0,5333	0,1111	0,0444	0,3333
PD97	N	0	2	5	8	1
	Media	NC	205	201	166	190
	Mediana	NC	205	209	166	190
	Std	NC	27	49	20	NC
	Mín - Máx	NC	186 - 224	155 - 271	143 - 201	190 - 190
PD111	N	0	1	3	6	2
	Media	NC	162	209	186	203
	Mediana	NC	162	228	188	203
	Std	NC	NC	34	10	14
	Mín - Máx	NC	162 - 162	170 - 228	170 - 197	193 - 213

Tabla 27

Colesterol total, % de cambio desde el valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	N	7	8	8	8	2
	Media	1	-7	-8	-11	-21
	Mediana	-6	□10	-11	-12	-21
	Std	13	7	8	6	2
	Mín - Máx	-13 - 20	-16 - 5	-16 - 4	-21 - -2	-23 - -19
	Valor de P		0,281	0,127	0,0721	0,0556
MD15	N	7	8	8	8	2
	Media	3	-4	-19	-23	-32
	Mediana	0	-2	-21	-22	-32
	Std	11	7	12	15	0
	Mín - Máx	-9 - 19	-14 - 4	-35 - 0	-51 - -8	-32 - -32
	Valor de P		0,281	0,0061	0,0012	0,0556
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	-2	-2	-21	-27	-40
	Mediana	2	-2	-21	-26	-40
	Std	12	11	9	12	8
	Mín - Máx	-26 - 11	-17 - 19	-34 - -6	-46 - -12	-45 - -34
	Valor de P		0,6943	0,014	0,0037	0,0556
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	-2	-2	-14	-24	-37
	Mediana	0	-1	-13	-23	-37
	Std	17	7	8	12	8
	Mín - Máx	-33 - 18	-14 - 8	-29 - -2	-40 - -6	-42 - -31

Colesterol total, % de cambio desde el valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Valor de P		0,9554	0,0502	0,0132	0,0833
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	7	-1	-12	-27	-39
	Mediana	9	0	-13	-28	-39
	Std	10	9	8	14	11
	Mín - Máx	-7 - 20	-11 - 8	-24 - -2	-50 - -12	-47 - -31
	Valor de P		0,0721	0,0025	0,0003	0,0556
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	10	2	-15	-23	-31
	Mediana	5	4	-13	-27	-31
	Std	14	7	8	14	6
	Mín - Máx	-6 - 31	-11 - 9	-28 - -7	-39 - -4	-35 - -27
	Valor de P		0,4634	0,0003	0,0006	0,0556
PD69	N	3	5	7	7	2
	Media	1	-3	-12	-27	-38
	Mediana	0	0	-12	-25	-38
	Std	5	11	6	11	10
	Mín - Máx	-3 - 7	-20 - 8	-20 - -4	-39 - -10	-45 - -31
	Valor de P		0,8571	0,0167	0,0167	0,2
PD83	N	2	4	7	8	2
	Media	8	1	-8	-20	-29
	Mediana	8	3	-7	-15	-29
	Std	5	8	6	12	13
	Mín - Máx	4 - 11	-10 - 7	-17 - 0	-35 - -6	-38 - -19
	Valor de P		0,2667	0,0556	0,0444	0,3333
PD97	N	0	2	5	8	1
	Media	NC	3	-8	-20	-21
	Mediana	NC	3	-9	-17	-21
	Std	NC	10	10	11	
	Mín - Máx	NC	-4 - 9	-18 - 8	-41 - -4	-21 - -21
PD111	N	0	1	3	6	2
	Media	NC	-16	5	-13	-21
	Mediana	NC	-16	0	-12	-21
	Std	NC		14	8	2
	Mín - Máx	NC	-16 - -16	-6 - 20	-25 - -4	-23 - -19

Colesterol HDL. En las Tablas 28 y 29 se presentan los niveles medios de colesterol HDL y el cambio de porcentaje medio respecto al valor de referencia del colesterol HDL, respectivamente. No se observaron cambios significativos en los niveles de colesterol HDL, como era de esperar ya que HDL no incluye un componente de apolipoproteína B. Al igual que niveles elevados de colesterol LDL son un factor de riesgo para la enfermedad cardiovascular, un colesterol HDL reducido también es un factor de riesgo que se considera a la hora de determinar si una persona tiene necesidad de un tratamiento hipolipemiante. Por tanto, el que ISIS 301012 no afecte negativamente a los niveles de colesterol HDL, es un resultado terapéutico positivo.

Tabla 28

Resumen del nivel de colesterol HDL, mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
Valor de referencia	N	7	8	8	9	4
	Media	51	59	49	53	59
	Mediana	44	52	45	48	57
	Std	19	18	11	13	17
	Mín - Máx	29 - 83	44 - 98	39 - 72	33 - 70	41 - 81
	Valor de P		0,1893	0,7789	0,4869	0,6485
MD8	N	7	7	8	8	2
	Media	48	49	47	47	44
	Mediana	53	52	44	45	44
	Std	13	13	10	10	21
	Mín - Máx	29 - 68	28 - 68	36 - 64	35 - 62	29 - 59
	Valor de P		0,9015	0,7789	0,8665	1
MD15	N	7	8	8	8	2
	Media	48	56	45	48	42
	Mediana	53	53	43	43	42
	Std	15	18	8	13	18
	Mín - Máx	29 - 67	36 - 94	36 - 64	35 - 68	29 - 54
	Valor de P		0,5358	0,8429	0,7789	0,5
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	51	57	46	52	54
	Mediana	52	52	42	48	54
	Std	18	14	11	15	21
	Mín - Máx	28 - 78	45 - 87	37 - 65	34 - 74	39 - 69
	Valor de P		0,7789	0,7542	1	0,8889
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	52	60	49	52	58
	Mediana	55	55	46	46	58
	Std	17	15	11	14	23
	Mín - Máx	28 - 75	48 - 94	37 - 69	34 - 73	42 - 74
	Valor de P		0,6126	0,8665	0,9551	0,8889
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	55	62	50	53	63
	Mediana	56	58	49	52	63
	Std	19	17	11	14	25
	Mín - Máx	27 - 82	43 - 99	38 - 73	29 - 71	45 - 80
	Valor de P		0,5358	0,5358	1	0,6667
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	55	65	50	56	72
	Mediana	56	63	49	54	72

ES 2 401 114 T3

Resumen del nivel de colesterol HDL, mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Std	18	19	11	16	17
	Mín - Máx	33 - 86	41 - 100	38 - 74	33 - 80	60 - 84
	Valor de P		0,3357	0,4634	0,9551	0,5
PD69	N	3	4	5	7	2
	Media	61	67	49	52	66
	Mediana	73	65	46	54	66
	Std	26	12	13	15	27
	Mín - Máx	32 - 79	57 - 83	35 - 68	30 - 73	47 - 85
	Valor de P		1	0,5714	0,3833	0,8
PD83	N	2	4	7	8	2
	Media	56	65	49	53	66
	Mediana	56	63	44	54	66
	Std	33	6	13	15	31
	Mín - Máx	32 - 79	62 - 75	38 - 75	31 - 77	45 - 88
	Valor de P		1	1	0,8889	0,6667
PD97	N	0	2	5	8	1
	Media	NC	62	52	52	87
	Mediana	NC	62	53	54	87
	Std	NC	3	16	13	
	Mín - Máx	NC	59 - 64	37 - 77	32 - 71	87 - 87
PD111	N	0	1	2	6	2
	Media	NC	55	63	56	65
	Mediana	NC	55	63	61	65
	Std	NC		11	13	27
	Mín - Máx	NC	55 - 55	56 - 71	31 - 68	46 - 84

Tabla 29

Colesterol HDL, % de cambio desde el valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	N	7	7	8	8	2
	Media	-2	-9	-5	-7	-28
	Mediana	-5	-5	-5	-8	-28
	Std	19	16	10	11	2
	Mín - Máx	-31 - 22	-35 - 9	-19 - 11	-27 - 8	-29 - -27
	Valor de P		0,7104	0,7789	0,7789	0,2222
MD15	N	7	8	8	8	2
	Media	-3	-6	-8	-6	-31
	Mediana	□10	-7	-9	-6	-31
	Std	20	8	10	8	3
	Mín - Máx	-22 - 24	-17 - 5	-22 - 3	-23 - 6	-33 - -29

ES 2 401 114 T3

Colesterol HDL, % de cambio desde el valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Valor de P		0,6943	0,9551	0,9551	0,0556
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	1	-2	-6	-1	□10
	Mediana	-7	-5	-6	3	□10
	Std	19	10	12	10	7
	Mín - Máx	-21 - 37	-11 - 16	-27 - 9	-21 - 10	-15 - -5
	Valor de P		0,8665	0,6126	0,7789	0,6667
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	2	3	0	0	-3
	Mediana	-5	2	-2	2	-3
	Std	19	6	13	5	7
	Mín - Máx	-17 - 30	-4 - 11	-22 - 15	-10 - 5	-8 - 2
	Valor de P		0,1893	0,8665	0,3969	1,0000
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	7	6	1	1	5
	Mediana	-2	6	-1	1	5
	Std	20	10	13	10	8
	Mín - Máx	-9 - 42	-12 - 19	-17 - 21	-12 - 20	0 - 11
	Valor de P		0,4634	0,7789	0,9551	0,5000
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	10	11	1	7	25
	Mediana	3	7	3	11	25
	Std	18	17	9	9	30
	Mín - Máx	-11 - 40	-7 - 45	-13 - 15	-12 - 15	4 - 46
	Valor de P		0,8421	0,4448	0,9294	0,3056
PD69	N	3	4	5	7	2
	Media	2	19	-2	-1	10
	Mediana	2	19	-5	2	10
	Std	7	7	19	9	6
	Mín - Máx	-5 - 9	12 - 28	-20 - 29	-15 - 13	5 - 14
	Valor de P		0,0571	0,3929	0,5167	0,4000
PD83	N	2	4	7	8	2
	Media	10	26	0	2	9
	Mediana	10	26	2	2	9
	Std	0	11	15	13	0
	Mín - Máx	10 - 10	12 - 38	-22 - 28	-15 - 27	9 - 9
PD97	Valor de P		0,1333	0,2222	0,1778	0,3333
	N	0	2	5	8	1
	Media	NC	18	5	1	8
	Mediana	NC	18	-2	0	8

Colesterol HDL, % de cambio desde el valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Std	NC	0	14	10	NC
PD111	Mín - Máx	NC	18 - 18	-5 - 29	-9 - 17	8 - 8
	N	0	1	2	6	2
	Media	NC	9	-1	3	8
	Mediana	NC	9	-1	-1	8
	Std	NC	NC	1	15	5
	Mín - Máx	NC	9 - 9	-2 - 0	-10 - 31	5 - 12

5 **Triglicérido.** Resúmenes de los niveles de triglicéridos y los cambios porcentuales se presentan en las Tablas 30 y 31, respectivamente. Se observaron reducciones dependientes de la dosis en los niveles de triglicéridos, con reducciones máximas del 27% en el grupo de 200 mg y del 43% en el grupo de 400 mg (Tabla 31). Los niveles elevados de triglicéridos en suero pueden ser considerados un factor de riesgo independiente para la cardiopatía coronaria, por lo tanto, una reducción en los niveles de triglicéridos es un resultado terapéuticamente deseable.

Tabla 30

Resumen del nivel de triglicéridos, mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
Valor de referencia	N	7	8	8	9	4
	Media	104	95	105	103	127
	Mediana	76	94	88	88	108
	Std	90	29	47	44	57
	Mín - Máx	56 - 307	55 - 139	65 - 212	51 - 179	82 - 209
	Valor de P		0,3512	0,0875	0,3652	0,0727
MD8	N	7	7	8	8	2
	Media	127	114	116	112	149
	Mediana	99	69	112	88	149
	Std	82	71	48	63	86
	Mín - Máx	41 - 286	51 - 239	37 - 209	57 - 232	88 - 209
	Valor de P		0,6200	0,8906	0,9551	0,6667
MD15	N	7	8	8	8	2
	Media	146	109	126	100	123
	Mediana	108	98	117	84	123
	Std	113	46	61	39	4
	Mín - Máx	50 - 371	46 - 178	34 - 231	72 - 172	120 - 126
	Valor de P		0,6943	1,0000	0,6733	0,8889
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	118	104	122	99	129
	Mediana	78	101	137	77	129
	Std	84	20	48	51	28
	Mín - Máx	56 - 291	80 - 133	56 - 204	50 - 199	109 - 149
	Valor de P		0,5142	0,6319	1,0000	0,6111

ES 2 401 114 T3

Resumen del nivel de triglicéridos, mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	110	95	114	101	91
	Mediana	90	86	108	97	91
	Std	83	24	47	47	32
	Mín - Máx	45 - 288	72 - 136	69 - 218	48 - 196	68 - 113
	Valor de P		1,0000	0,4634	0,7167	0,9444
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	113	116	114	91	83
	Mediana	63	99	98	84	83
	Std	89	46	61	36	26
	Mín - Máx	56 - 297	75 - 207	45 - 240	49 - 138	64 - 101
	Valor de P		0,3201	0,5894	0,9336	0,8333
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	97	93	146	77	103
	Mediana	59	81	115	77	103
	Std	65	41	103	23	51
	Mín - Máx	52 - 226	49 - 168	56 - 389	41 - 109	67 - 139
	Valor de P		0,8026	0,1520	0,8665	0,5000
PD69	N	3	4	5	7	2
	Media	219	110	197	103	106
	Mediana	92	110	135	90	106
	Std	248	36	146	57	6
	Mín - Máx	61 - 505	67 - 152	98 - 451	41 - 222	101 - 110
	Valor de P		0,8571	0,5714	0,8333	0,8000
PD83	N	2	4	7	8	2
	Media	237	94	131	134	148
	Mediana	237	96	108	107	148
	Std	199	36	72	74	59
	Mín - Máx	96 - 378	47 - 135	38 - 243	55 - 262	106 - 190
	Valor de P		0,4667	0,6667	0,5333	1,0000
PD97	N	0	2	5	8	1
	Media	NC	147	149	99	83
	Mediana	NC	147	128	85	83
	Std	NC	50	112	56	NC
	Mín - Máx	NC	111 - 182	59 - 337	60 - 232	83 - 83
	Valor de P					
PD111	N	0	1	2	6	2
	Media	NC	151	96	118	109
	Mediana	NC	151	96	80	109
	Std	NC	NC	68	106	34
	Mín - Máx	NC	151 - 151	48 - 144	46 - 326	85 - 133
	Valor de P					

Tabla 31

Media de triglicéridos, % del valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	N	7	7	8	8	2
	Media	32	8	17	-1	-5
	Mediana	17	0	11	-4	-5
	Std	53	44	49	27	7
	Mín - Máx	-27 - 108	-41 - 72	-54 - 117	-34 - 52	-9 - 0
	Valor de P		0,3829	0,9551	0,3357	0,5
MD15	N	7	8	8	8	2
	Media	45	17	34	-6	-6
	Mediana	21	25	8	0	-6
	Std	64	37	97	20	51
	Mín - Máx	-24 - 166	-47 - 50	-58 - 255	-42 - 22	-43 - 30
	Valor de P		0,9551	0,6126	0,0289	0,5
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	21	18	21	-8	-8
	Mediana	0	13	8	-6	-8
	Std	41	38	47	28	29
	Mín - Máx	-13 - 101	-35 - 91	-30 - 117	-64 - 30	-29 - 12
	Valor de P		1	0,9551	0,1206	0,5
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	10	4	12	-7	-38
	Mediana	17	4	1	-7	-38
	Std	32	26	29	26	11
	Mín - Máx	-38 - 47	-34 - 35	-14 - 69	-46 - 28	-46 - -30
	Valor de P		0,6943	1	0,281	0,1111
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	12	23	10	-15	-43
	Mediana	-3	16	4	-20	-43
	Std	43	35	44	23	13
	Mín - Máx	-18 - 99	-13 - 92	-44 - 106	-44 - 30	-52 - -34
	Valor de P		0,281	0,7789	0,152	0,0556
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	1	-1	37	-27	-32
	Mediana	-11	-6	20	-34	-32
	Std	38	30	60	20	2
	Mín - Máx	-30 - 70	-52 - 56	-30 - 160	-43 - 18	-34 - -31
	Valor de P		0,7789	0,2319	0,0541	0,0556
PD69	N	3	4	5	7	2
	Media	30	12	99	-9	-19

Media de triglicéridos, % del valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Mediana	17	17	14	-11	-19
	Std	30	21	176	34	46
	Mín - Máx	9 - 65	-16 - 29	-14 - 407	-54 - 45	-52 - 13
	Valor de P		0,6286	1	0,1833	0,4
PD83	N	2	4	7	8	2
	Media	22	-2	31	17	23
	Mediana	22	-1	21	22	23
	Std	1	26	70	30	103
	Mín - Máx	22 - 23	-32 - 25	-53 - 170	-25 - 71	-49 - 96
	Valor de P		0,5333	0,8889	1	1
PD97	N	0	2	5	8	1
	Media	NC	57	24	-9	-14
	Mediana	NC	57	6	-16	-14
	Std	NC	6	43	31	NC
	Mín - Máx	NC	53 - 61	-26 - 78	-39 - 52	-14 - -14
PD111	N	0	1	2	6	2
	Media	NC	27	41	6	-24
	Mediana	NC	27	41	-16	-24
	Std	NC	NC	114	57	17
	Mín - Máx	NC	27 - 27	-40 - 122	-45 - 113	-36 - -12

5 **Lipoproteína (a).** Las tablas 32 y 33 muestran los niveles medios de lipoproteína (a) y los cambios medios de lipoproteína (a) en relación con el valor de referencia, respectivamente. La lipoproteína (a) se ha relacionado con el desarrollo y la progresión de la aterosclerosis, por lo que su reducción puede ser un objetivo de las terapias reductoras de lípidos. Se observó una reducción máxima de aproximadamente el 22% en el grupo de 200 mg el MD22, sin embargo, no se observaron otras reducciones estadísticamente significativas dependientes de la dosis en lipoproteína (a).

Tabla 32

Resumen del nivel de lipoproteína (a), mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
Valor de referencia	N	7	8	8	9	4
	Media	12	16	10	24	6
	Mediana	4	7	7	11	5
	Std	16	24	11	27	4
	Mín - Máx	1 - 45	1 - 71	1 - 29	3 - 73	1 - 10
	Valor de P		0,6876	0,9549	0,2507	0,8242
MD8	N	7	7	8	8	2
	Media	12	6	11	25	4
	Mediana	6	3	6	10	4
	Std	15	7	13	29	4
	Mín - Máx	1 - 43	1 - 21	1 - 32	4 - 84	1 - 7

ES 2 401 114 T3

Resumen del nivel de lipoproteína (a), mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Valor de P		0,5973	0,8291	0,2213	0,6389
MD15	N	7	8	8	8	2
	Media	13	17	10	22	5
	Mediana	5	5	7	8	5
	Std	15	27	11	26	6
	Mín - Máx	1 - 41	1 - 81	1 - 30	6 - 67	1 - 9
	Valor de P		0,8379	0,7739	0,2681	0,6389
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	13	15	8	21	4
	Mediana	3	3	3	8	4
	Std	16	26	11	26	4
	Mín - Máx	1 - 44	1 - 75	1 - 31	3 - 63	1 - 7
	Valor de P		0,8632	0,6061	0,2674	0,6389
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	14	17	10	22	4
	Mediana	5	6	4	9	4
	Std	18	30	12	26	5
	Mín - Máx	1 - 50	1 - 89	1 - 31	2 - 65	1 - 7
	Valor de P		0,9549	0,7629	0,3340	0,7500
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	14	14	8	23	3
	Mediana	9	3	4	11	3
	Std	15	27	9	27	3
	Mín - Máx	1 - 38	1 - 80	1 - 21	2 - 70	1 - 6
	Valor de P		0,6876	0,5820	0,4434	0,5000
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	13	14	8	21	1
	Mediana	4	3	1	8	1
	Std	15	25	11	24	0
	Mín - Máx	1 - 42	1 - 74	1 - 28	4 - 60	1 - 1
	Valor de P		0,6061	0,2211	0,2810	0,1389
PD69	N	3	4	5	7	2
	Media	2	4	9	23	3
	Mediana	1	3	6	13	3
	Std	2	3	11	25	2
	Mín - Máx	1 - 4	1 - 8	1 - 27	3 - 61	1 - 4
	Valor de P		0,5429	0,3214	0,0333	0,7000
PD83	N	2	4	7	8	2
	Media	3	3	9	21	4
	Mediana	3	1	4	13	4

ES 2 401 114 T3

Resumen del nivel de lipoproteína (a), mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Std	2	4	10	26	4
	Mín - Máx	1 - 4	1 - 9	1 - 23	1 - 65	1 - 7
	Valor de P		1,0000	0,5000	0,4000	1,0000
PD97	N	0	2	5	8	1
	Media	NC	1	14	22	1
	Mediana	NC	1	10	12	1
	Std	NC	0	11	25	
	Mín - Máx	NC	1 - 1	1 - 27	1 - 66	1 - 1
PD111	N	0	1	2	6	2
	Media	NC	3	28	23	5
	Mediana	NC	3	28	10	5
	Std	NC		2	33	5
	Mín - Máx	NC	3 - 3	27 - 30	4 - 90	1 - 9

Tabla 33

Lipoproteína (a), % de cambio desde el valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	N	7	7	8	8	2
	Media	32	-12	-6	1	-17
	Mediana	0	-21	0	-7	-17
	Std	75	61	31	22	25
	Mín - Máx	-21 - 190	-82 - 110	-60 - 41	-24 - 40	-35 - 0
	Valor de P		0,2063	0,8432	0,4448	0,4722
MD15	N	7	8	8	8	2
	Media	26	29	-5	-8	-5
	Mediana	0	27	0	-15	-5
	Std	56	77	20	34	6
	Mín - Máx	-9 - 150	-80 - 140	-41 - 28	-37 - 74	-9 - 0
	Valor de P		1	0,3893	0,0138	0,4444
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	25	6	-24	-22	-14
	Mediana	0	-9	-20	-23	-14
	Std	65	110	27	15	20
	Mín - Máx	-18 - 170	-89 - 250	-66 - 5	-49 - -3	-29 - 0
	Valor de P		0,4625	0,0476	0,0034	0,3333
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	11	-9	-14	-20	-13
	Mediana	9	-6	-6	-15	-13
	Std	14	32	28	13	19
	Mín - Máx	0 - 39	-50 - 38	-60 - 24	-41 - -4	-27 - 0

Lipoproteína (a), % de cambio desde el valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Valor de P		0,1377	0,0659	0,0003	0,1667
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	46	-31	-19	-15	-22
	Mediana	7	-30	-17	-9	-22
	Std	65	35	23	27	32
	Mín - Máx	-17 - 139	-78 - 13	-59 - 8	-75 - 9	-45 - 0
	Valor de P		0,0176	0,0253	0,0499	0,2222
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	41	-26	-30	-14	-45
	Mediana	8	-4	-22	-16	-45
	Std	65	41	33	28	64
	Mín - Máx	-7 - 140	-89 - 16	-91 - 0	-52 - 41	-90 - 0
	Valor de P		0,039	0,0034	0,014	0,1389
PD69	N	3	4	5	7	2
	Media	3	-16	-12	-5	-29
	Mediana	0	-20	-5	□10	-29
	Std	4	66	20	38	41
	Mín - Máx	0 - 8	-89 - 67	-48 - 0	-68 - 43	-57 - 0
	Valor de P		0,6286	0,125	0,7833	0,6
PD83	N	2	4	7	8	2
	Media	4	-22	-28	-20	-18
	Mediana	4	0	-20	-17	-18
	Std	5	45	26	55	25
	Mín - Máx	0 - 8	-89 - 2	-60 - 0	-91 - 81	-36 - 0
	Valor de P		0,4667	0,1389	0,4	0,6667
PD97	N	0	2	5	8	1
	Media	NC	-45	-15	4	0
	Mediana	NC	-45	-20	-13	0
	Std	NC	63	20	69	
	Mín - Máx	NC	-89 - 0	-38 - 12	-91 - 141	0,0 - 0,0
PD111	N	0	1	2	6	2
	Media	NC	-70	8	24	-7
	Mediana	NC	-70	8	5	-7
	Std	NC		23	80	11
	Mín - Máx	NC	-70 - -70	-8 - 24	-63 - 156	-15 - 0

Colesterol total frente a colesterol HDL. Las mejoras en los niveles de lipoproteínas se pueden evaluar comparando la proporción de colesterol total frente a colesterol HDL. Una disminución de este índice indica una mejora en un perfil lipoproteico, y tal disminución puede ocurrir ya sea a través de la reducción del colesterol total, el aumento del colesterol HDL, o una combinación de cambios en ambos parámetros. Como era de esperar después de una disminución en el colesterol total y ningún cambio en el colesterol HDL, esta proporción mejoró después del tratamiento con ISIS 301012. Por ejemplo, en el grupo de 200 mg, se observó una reducción máxima de aproximadamente el 29% el día PD55 (Tabla 35).

Tabla 34

Proporción de colesterol total-colesterol HDL, resumen						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
Valor de referencia	N	7	8	8	9	4
	Media	5	4	4	4	4
	Mediana	4	4	4	4	4
	Std	2	1	1	1	2
	Mín - Máx	3 - 9	2 - 5	2 - 6	3 - 6	3 - 7
	Valor de P		0,8665	0,9551	0,7577	1
MD8	N	7	7	8	8	2
	Media	5	4	4	4	5
	Mediana	4	4	4	4	5
	Std	2	1	1	1	2
	Mín - Máx	3 - 8	3 - 6	3 - 7	3 - 6	3 - 7
	Valor de P		0,8316	0,6943	0,3357	1
MD15	N	7	8	8	8	2
	Media	5	4	4	3	4
	Mediana	4	4	4	3	4
	Std	2	1	1	0	2
	Mín - Máx	3 - 9	2 - 5	3 - 6	3 - 4	3 - 6
	Valor de P		0,6126	0,3514	0,0289	0,6667
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	5	4	4	3	3
	Mediana	4	4	4	3	3
	Std	2	1	1	1	1
	Mín - Máx	3 - 9	2 - 5	3 - 6	2 - 4	2 - 4
	Valor de P		0,843	0,8665	0,0939	0,5
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	5	4	4	3	3
	Mediana	4	4	4	3	3
	Std	2	1	1	1	1
	Mín - Máx	3 - 10	3 - 5	3 - 6	2 - 4	2 - 4
	Valor de P		0,7559	0,9312	0,0876	0,6389
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	5	4	4	3	3
	Mediana	4	4	4	3	3
	Std	2	1	1	1	1
	Mín - Máx	3 - 9	3 - 5	3 - 6	2 - 4	2 - 3
	Valor de P		0,2949	0,7169	0,0541	0,0556
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	5	4	4	3	2
	Mediana	4	3	4	3	2

ES 2 401 114 T3

Proporción de colesterol total-colesterol HDL, resumen						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Std	2	1	1	1	1
	Mín - Máx	3 - 8	3 - 5	3 - 6	2 - 4	2 - 3
	Valor de P		0,2438	0,4634	0,0225	0,1111
PD69	N	3	4	5	7	2
	Media	5	3	4	3	3
	Mediana	3	3	4	3	3
	Std	3	1	2	1	1
	Mín - Máx	3 - 7	3 - 4	3 - 6	2 - 4	2 - 3
	Valor de P		0,4	0,7857	0,35	0,8
PD83	N	2	4	7	8	2
	Media	5	3	4	3	3
	Mediana	5	3	4	3	3
	Std	3	1	1	1	1
	Mín - Máx	3 - 8	3 - 4	2 - 6	2 - 4	2 - 4
	Valor de P		0,5333	0,8889	0,4	0,6667
PD97	N	0	2	5	8	1
	Media	NC	3	4	3	2
	Mediana	NC	3	4	3	2
	Std	NC	0	2	1	NC
	Mín - Máx	NC	3 - 3	2 - 6	2 - 5	2 - 2
PD111	N	0	1	2	6	2
	Media	NC	3	4	3	3
	Mediana	NC	3	4	3	3
	Std	NC	NC	1	1	1
	Mín - Máx	NC	3 - 3	3 - 4	3 - 6	2 - 4

Tabla 35

Proporción de colesterol total:HDL, % de cambio desde el valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	N	7	7	8	8	2
	Media	6	3	2	-2	6
	Mediana	2	-3	-0,7	-7	6
	Std	14	16	8	13	5
	Mín - Máx	-12 - 29	-10 - 35	-6 - 20	-14 - 23	3 - 10
	Valor de P		0,7104	0,6943	0,2319	0,6667
MD15	N	7	8	8	8	2
	Media	10	-1	-6	-18	-9
	Mediana	11	-2	-6	-19	-9
	Std	11	6	14	14	1
	Mín - Máx	-3 - 28	-9 - 9	-28 - 17	-37 - 11	-10 - -9

ES 2 401 114 T3

Proporción de colesterol total:HDL, % de cambio desde el valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Valor de P		0,0541	0,0721	0,0022	0,0556
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	0,5	-3	-8	-24	-34
	Mediana	-1	-3	□10	-25	-34
	Std	12	7	8	11	13
	Mín - Máx	-14 - 21	-14 - 8	-18 - 5	-38 - -10	-43 - -25
	Valor de P		0,7789	0,1206	0,0012	0,0556
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	-3	-6	□10	-24	-33
	Mediana	-2	-4	□10	-21	-33
	Std	9	7	9	11	12
	Mín - Máx	-16 -7	-15 -7	-23 - 5	-39 - -11	-42 - -25
	Valor de P		0,5358	0,1206	0,0022	0,0556
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	0,8	-9	□10	-27	-43
	Mediana	5	-8	-6	-26	-43
	Std	10	14	12	14	17
	Mín - Máx	-15 - 11	-34 - 11	-35 - 3	-45 - -8	-55 - -31
	Valor de P		0,1893	0,0939	0,0037	0,0556
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	-1	-9	-11	-29	-45
	Mediana	-0,7	-12	-7	-28	-45
	Std	6	18	15	12	17
	Mín - Máx	-10 - 6	-38 - 11	-44 - 7	-42 - -9	-57 - -33
	Valor de P		0,5358	0,152	0,0006	0,0556
PD69	N	3	4	5	7	2
	Media	-2	-27	-6	-26	-41
	Mediana	-0,7	-25	-0,4	-26	-41
	Std	14,2	7,3	17,4	15,5	12
	Mín - Máx	-17 - 11	-38 - -22	-37 - 5	-53 - -6	-50 - -33
	Valor de P		0,0571	1	0,0667	0,2
PD83	N	2	4	7	8	2
	Media	-8	-26	-5	-20	-35
	Mediana	-8	-27	-5	-19	-35
	Std	10	4	14	18	12
	Mín - Máx	-15 - -1	-29 - -20	-31 - 11	-54 - 2	-43 - -26
	Valor de P		0,1333	0,6667	0,4	0,3333
PD97	N	0	2	5	8	1
	Media	NC	-15	-9	-17	-31
	Mediana	NC	-15	-4	-13	-31

Proporción de colesterol total:HDL, % de cambio desde el valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Std	NC	6	17	18	0
	Mín - Máx	NC	-19 - -11	-36 - 5	-56 - 2	-31 - -31
PD111	N	0	1	2	6	2
	Media	NC	-22	15	-18	-32
	Mediana	NC	-22	15	-13	-32
	Std	NC	NC	16	15	10
	Mín - Máx	NC	-22 - -22	4 - 26	-48 - -6	-39 - -25

5 **Colesterol LDL frente a colesterol HDL.** Los perfiles lipídicos fueron evaluados adicionalmente, comparando el nivel de colesterol LDL con el nivel de colesterol HDL. Una disminución en esta proporción es un resultado positivo e indica una reducción del colesterol LDL, un aumento del colesterol HDL, o una combinación de cambios en ambos parámetros. Como sería de esperar, con la disminución del colesterol LDL y ningún cambio en el colesterol HDL después del tratamiento con ISIS 301012, esta proporción se redujo. Por ejemplo, la proporción media en el grupo de 200 mg era de aproximadamente un 38% menos que los niveles de referencia el día PD39.

Tabla 36

Proporción LDL:HDL, resumen						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
Valor de referencia	N	7	8	8	9	4
	Media	3	2	3	3	3
	Mediana	3	2	3	3	2
	Std	2	1	1	1	1
	Mín - Máx	2 - 6	1 - 3	1 - 4	2 - 5	2 - 4
	Valor de P		0,4634	0,9315	0,5913	0,6848
MD8	N	7	7	8	8	2
	Media	3	3	3	2	3
	Mediana	2	2	3	2	3
	Std	1	1	1	1	2
	Mín - Máx	2 - 5	2 - 4	2 - 5	2 - 3	2 - 4
	Valor de P		0,8048	0,9551	0,5565	0,6667
MD15	N	7	8	8	8	2
	Media	3	2	2	2	2
	Mediana	2	2	2	2	2
	Std	2	1	1	0	2
	Mín - Máx	2 - 6	1 - 3	2 - 4	1 - 3	1 - 3
	Valor de P		0,7789	0,3357	0,0401	0,6667
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	3	2	2	2	2
	Mediana	2	2	2	2	2
	Std	2	1	1	1	1
	Mín - Máx	2 - 6	1 - 3	1 - 4	1 - 2	1 - 2
	Valor de P		0,8019	0,9551	0,1284	0,5

ES 2 401 114 T3

Proporción LDL:HDL, resumen						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	3	2	2	2	2
	Mediana	2	2	2	2	2
	Std	2	1	1	0	1
	Mín - Máx	2 - 6	2 - 3	1 - 4	1 - 2	1 - 2
	Valor de P		0,7789	0,9551	0,152	0,5
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	3	2	2	2	1
	Mediana	2	2	2	2	1
	Std	2	1	1	0	1
	Mín - Máx	2 - 6	1 - 3	1 - 4	1 - 2	1 - 2
	Valor de P		0,5542	0,841	0,0135	0,2222
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	3	2	2	2	1
	Mediana	2	2	2	1	1
	Std	1	1	1	1	1
	Mín - Máx	2 - 6	1 - 3	1 - 4	1 - 2	1 - 2
	Valor de P		0,3201	0,5358	0,0401	0,1111
PD69	N	2	2	5	7	2
	Media	2	2	2	2	1
	Mediana	2	2	2	2	1
	Std	0	0	1	1	1
	Mín - Máx	2 - 2	2 - 2	1 - 4	1 - 3	1 - 2
	Valor de P		1	0,5714	0,8889	1
PD83	N	2	3	7	8	2
	Media	3	2	2	2	2
	Mediana	3	2	3	2	2
	Std	3	0	1	1	1
	Mín - Máx	2 - 5	2 - 2	1 - 4	1 - 3	1 - 2
	Valor de P		1	0,8889	0,8889	0,6667
PD97	N	0	2	5	8	0
	Media	NC	2	2	2	NC
	Mediana	NC	2	2	2	NC
	Std	NC	0	1	1	NC
	Mín - Máx	NC	2 - 2	1 - 4	1 - 3	NC
	Valor de P					
PD111	N	0	1	2	6	0
	Media	NC	2	2	2	NC
	Mediana	NC	2	2	2	NC
	Std	NC		1	1	NC
	Mín - Máx	NC	2 - 2	2 - 2	1 - 4	NC
	Valor de P					

Tabla 37

Proporción de LDL:HDL, % de cambio desde los valores de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	N	7	7	8	8	2
	Media	2	3	-3	-5	1
	Mediana	5	-3	-3	-6	1
	Std	17	19	20	19	4
	Mín - Máx	-15 - 28	-12 - 44	-25 - 34	-30 - 28	-2 - 4
	Valor de P	0	0,8048	0,5358	0,637	0,8889
MD15	N	7	8	8	8	2
	Media	7	6	-16	-24	-19
	Mediana	2	0	-18	-24	-19
	Std	19	15	21	18	2
	Mín - Máx	-16 - 41	-8 - 33	-44 - 22	-50 - 0	-20 - -18
	Valor de P	0	0,8665	0,0289	0,0093	0,0556
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	-4	3	-16	-31	-42
	Mediana	1	2	-19	-28	-42
	Std	19	16	14	16	12
	Mín - Máx	-27 - 27	-13 - 39	-36 - 11	-56 - -12	-51 - -34
	Valor de P	0	0,6126	0,3969	0,0103	0,0556
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	-7	0,6	-18	-31	-42
	Mediana	0	-4	-19	-26	-42
	Std	15	18	13	15	12
	Mín - Máx	-32 - 4	-14 - 42	-35 - 6	-56 - -15	-50 - -34
	Valor de P	0	0,9551	0,2319	0,0205	0,0556
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	-6	-9	-19	-36	-47
	Mediana	-8	-13	-23	-34	-47
	Std	16	16	12	20	13
	Mín - Máx	-25 - 22	-28 - 28	-33 - 2	-62 - -8	-56 - -37
	Valor de P	0	0,8665	0,0721	0,0093	0,0556
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	□10	-14	-21	-38	-51
	Mediana	-14	-17	-27	-35	-51
	Std	8	12	17	16	14
	Mín - Máx	-18 - 2	-32 - 6	-42 - 6	-59 - -10	-61 - -41
	Valor de P	0	0,3969	0,1893	0,0037	0,0556
PD69	N	2	2	5	7	2
	Media	6	-26	-15	-28	-46

Proporción de LDL:HDL, % de cambio desde los valores de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Mediana	6	-26	-15	-24	-46
	Std	23	15	13	14	9
	Mín - Máx	-10 - 23	-37 - -16	-36 - -2	-50 - -10	-53 - -40
	Valor de P	0	0,3333	0,381	0,1111	0,3333
PD83	N	2	3	7	8	2
	Media	□10	-24	-18	-24	-36
	Mediana	□10	-30	-23	-17	-36
	Std	2	12	9	19	11
	Mín - Máx	-12 - -9	-30 - -10	-28 - -4	-52 - 5	-44 - -28
	Valor de P	0	0,4	0,5	0,2667	0,3333
PD97	N	0	2	5	8	0
	Media	NC	-14	-18	-21	NC
	Mediana	NC	-14	-16	-13	NC
	Std	NC	12	18	18	NC
	Mín - Máx	NC	-22 - -6	-37 - 5	-54 - -3	NC
	N	0	1	2	6	0
	Media	NC	-24	7	-20	NC
	Mediana	NC	-24	7	-16	NC
	Std	NC	0	24	14	NC
	Mín - Máx	NC	-24	-10 - 24	-46 - -7	NC

Colesterol VLDL. Se observaron reducciones en el colesterol VLDL, como se muestra en las tablas 38 y 39. Las reducciones máximas fueron de 30% en el grupo de 200 mg y de 60% en el grupo de 400 mg (Tabla 39).

Tabla 38

Resumen del nivel total de VLDL, mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
Valor de referencia	N	7	8	8	9	4
	Media	77	59	78	71	107
	Mediana	47	66	66	59	88
	Std	83	31	43	36	48
	Mín - Máx	36 - 264	16 - 95	45 - 179	34 - 136	73 - 177
	Valor de P		0,9807	0,1604	0,5177	0,0727
MD8	N	7	7	8	8	2
	Media	91	83	89	75	118
	Mediana	56	54	81	56	118
	Std	75	68	42	48	81
	Mín - Máx	24 - 242	18 - 210	34 - 174	37 - 177	61 - 175
	Valor de P		0,8048	0,6126	0,9551	0,5
MD15	N	7	8	8	8	2
	Media	108	78	100	65	83

ES 2 401 114 T3

Resumen del nivel total de VLDL, mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Mediana	72	63	97	53	83
	Std	104	48	58	25	10
	Mín - Máx	25 - 326	29 - 146	21 - 190	41 - 105	76 - 90
	Valor de P		0,8665	0,7167	0,5913	0,8889
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	86	79	95	66	93
	Mediana	52	74	100	57	93
	Std	75	40	43	31	35
	Mín - Máx	30 - 244	28 - 141	43 - 166	29 - 129	68 - 118
	Valor de P		0,7789	0,3969	0,9551	0,5
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	79	65	89	63	59
	Mediana	61	60	86	54	59
	Std	78	33	34	39	46
	Mín - Máx	20 - 246	19 - 121	60 - 163	29 - 153	26 - 91
	Valor de P		0,843	0,2303	0,8887	0,8611
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	83	85	94	62	66
	Mediana	46	77	81	60	66
	Std	76	43	49	28	34
	Mín - Máx	28 - 239	24 - 157	50 - 195	23 - 97	42 - 90
	Valor de P		0,5358	0,281	1	0,9444
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	67	58	105	50	66
	Mediana	41	47	85	51	66
	Std	58	35	74	21	50
	Mín - Máx	23 - 191	22 - 115	42 - 279	18 - 77	30 - 101
	Valor de P		1	0,0671	0,7789	1
PD69	N	3	4	5	7	2
	Media	150	66	130	70	83
	Mediana	48	59	104	61	83
	Std	184	27	73	43	23
	Mín - Máx	40 - 363	44 - 102	67 - 255	21 - 156	66 - 99
	Valor de P		1	0,5714	1	0,8
PD83	N	2	4	7	8	2
	Media	190	50	90	89	109
	Mediana	190	52	80	82	109
	Std	187	25	54	54	55
	Mín - Máx	57 - 322	21 - 74	23 - 176	29 - 185	70 - 148
	Valor de P		0,5333	0,6667	0,5333	1

ES 2 401 114 T3

Resumen del nivel total de VLDL, mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
PD97	N	0	2	5	8	1
	Media	NC	82	112	67	43
	Mediana	NC	82	95	52	43
	Std	NC	45	87	46	NC
	Mín - Máx	NC	50 - 114	42 - 260	34 - 176	43 - 43
PD111	N	0	1	2	6	2
	Media	NC	94	76	78	82
	Mediana	NC	94	76	48	82
	Std	NC	,	60	77	48
	Mín - Máx	NC	94 - 94	33 - 118	19 - 225	48 - 116

Tabla 39

VLDL total, % de cambio desde el valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	N	7	7	8	8	2
	Media	37	18	23	-2	-17
	Mediana	18	0	12	□10	-17
	Std	69	57	52	29	22
	Mín - Máx	-58 - 149	-45 - 121	-37 - 135	-41 - 55	-32 - -1
	Valor de P		0,535	0,7789	0,2319	0,3333
MD15	N	7	8	8	8	2
	Media	47	39	45	-8	-32
	Mediana	51	56	16	-15	-32
	Std	72	48	106	29	24
	Mín - Máx	-44 - 155	-36 - 88	-68 - 273	-47 - 50	-49 - -16
	Valor de P		0,9551	0,8665	0,152	0,2222
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	27	53	30	-6	-29
	Mediana	11	40	15	3	-29
	Std	59	68	54	32	6
	Mín - Máx	-47 - 134	-30 - 171	-35 - 128	-70 - 35	-33 - -24
	Valor de P		0,6126	1	0,3969	0,2222
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	14	25	23	-13	-60
	Mediana	14	6	17	-7	-60
	Std	60	57	33	34	16
	Mín - Máx	-64 - 102	-37 - 125	-9 - 84	-57 - 34	-71 - -49
	Valor de P		0,7789	0,8023	0,3969	0,2222
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	16	61	25	-12	-51

VLDL total, % de cambio desde el valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Mediana	-11	26	14	-15	-51
	Std	55	75	41	36	3
	Mín - Máx	-22 - 113	5 - 225	-9 - 120	-56 - 51	-53 - -49
	Valor de P		0,0721	0,1206	0,4634	0,0556
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	-1	5	33	-30	-55
	Mediana	-26	20	20	-44	-55
	Std	50	34	45	31	17
	Mín - Máx	-36 - 76	-57 - 38	-22 - 124	-51 - 42	-67 - -43
	Valor de P		0,6126	0,1206	0,0721	0,0556
PD69	N	3	4	5	7	2
	Media	4	35	83	-8	-35
	Mediana	-11	20	49	-4	-35
	Std	30	55	124	39	12
	Mín - Máx	-16 - 38	-15 - 114	-27 - 292	-69 - 39	-44 - -27
	Valor de P		0,6286	0,3929	0,8333	0,2
PD83	N	2	4	7	8	2
	Media	24	-7	21	13	2
	Mediana	24	-16	6	9	2
	Std	3	52	63	36	88
	Mín - Máx	22 - 27	-60 - 64	-57 - 126	-31 - 62	-61 - 64
	Valor de P		0,5333	0,8889	0,7111	1
PD97	N	0	2	5	8	1
	Media	NC	14	35	-8	-52
	Mediana	NC	14	8	10	-52
	Std	NC	25	62	37	
	Mín - Máx	NC	-4 - 31	-18 - 138	-52 - 54	-52 - -52
PD111	N	0	1	2	6	2
	Media	NC	8	46	-3	-41
	Mediana	NC	8	46	-16	-41
	Std	NC		120	53	9
	Mín - Máx	NC	8 - 8	-39 - 131	-44 - 97	-47 - -35

Tamaño de las partículas LDL. Existen pruebas de que concentraciones elevadas de las partículas de LDL pequeñas y densas pueden ser indicadores fiables de riesgo cardiovascular. Para evaluar los efectos de ISIS 301012 sobre el tamaño de las partículas de LDL en los participantes del estudio, se determinó la concentración total de partículas de LDL, partículas de la subclase LDL pequeñas y grandes y el tamaño medio de las partículas de LDL por RMN (Liposcience, Raleigh, NC). Como la apolipoproteína B es un componente del colesterol LDL, los niveles de apolipoproteína B proporcionaban una medición independiente de la concentración de partículas LDL. Además de las reducciones en el suero de la apolipoproteína B y el colesterol LDL en el grupo de dosis de 200 mg, se observaron reducciones significativas en el número de partículas LDL, predominantemente las partículas de LDL pequeñas y densas. Se observaron reducciones en la concentración de las partículas de LDL pequeñas (Tablas 40 y 41), así como en la fracción de colesterol LDL de colesterol LDL pequeño (Tablas 42 y 43). La duración de la respuesta era compatible con la semivida larga en el tejido hepático de ISIS 301012.

ES 2 401 114 T3

Estos resultados indican que la reducción del colesterol LDL después de la inhibición antisentido de la apolipoproteína B se debe en parte a la reducción de partículas LDL pequeñas, densas y aterogénicas.

Tabla 40

Concentración de partículas de LDL pequeñas, nmol/L						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
Valor de referencia	N	7	8	8	9	4
	Media	913	401	848	821	869
	Mediana	593	454	646	856	758
	Std	859	306	583	277	511
	Mín - Máx	409 - 2824	0 - 859	243 - 2134	446 - 1363	389 - 1569
	Valor de P		0,152	0,6943	0,351	0,7879
MD8	N	7	7	8	8	2
	Media	1157	463	946	780	695
	Mediana	989	484	828	687	695
	Std	662	252	565	409	809
	Mín - Máx	656 - 2582	8 - 775	416 - 2177	450 - 1709	123 - 1267
	Valor de P		0,0023	0,3969	0,1206	0,8889
MD15	N	7	8	8	8	2
	Media	1181	465	825	582	390
	Mediana	876	426	618	594	390
	Std	844	391	545	212	465
	Mín - Máx	245 - 2699	2 - 1107	397 - 2089	322 - 914	61 - 719
	Valor de P		0,0939	0,281	0,0939	0,2222
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	979	449	816	520	265
	Mediana	849	423	726	461	265
	Std	693	367	607	246	375
	Mín - Máx	93 - 2310	0 - 935	217 - 2134	236 - 1023	0 - 530
	Valor de P		0,152	0,6126	0,1206	0,1111
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	993	434	862	514	272
	Mediana	634	416	723	471	272
	Std	861	273	597	210	343
	Mín - Máx	327 - 2846	15 - 825	244 - 2193	308 - 900	29 - 514
	Valor de P		0,0721	0,7789	0,1893	0,1111
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	887	507	688	344	172
	Mediana	646	487	644	344	172
	Std	652	387	564	148	155
	Mín - Máx	346 - 2226	19 - 1112	6 - 1948	98 - 571	62 - 281
	Valor de P		0,281	0,5911	0,014	0,0556
PD55	N	7	8	8	8	2

ES 2 401 114 T3

Concentración de partículas de LDL pequeñas, nmol/L						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Media	876	479	791	289	280
	Mediana	646	474	580	281	280
	Std	668	361	540	231	339
	Mín - Máx	124 - 2205	7 - 1032	453 - 2061	6 - 657	40 - 519
	Valor de P		0,2319	0,6943	0,0401	0,2222
PD69	N	3	4	5	7	2
	Media	1096	345	881	589	232
	Mediana	590	393	869	551	232
	Std	897	234	576	281	242
	Mín - Máx	566 - 2131	19 - 576	286 - 1809	352 - 1189	61 - 403
	Valor de P		0,1143	0,7857	0,1833	0,2
PD83	N	2	4	7	8	2
	Media	1478	522	919	509	196
	Mediana	1478	636	912	422	196
	Std	1600	358	621	292	277
	Mín - Máx	346 - 2609	0-816	291 - 2185	100 - 1060	0-392
	Valor de P		0,8	0,8889	0,6889	0,6667
PD97	N	0	2	5	8	1
	Media	NC	1051	879	592	0
	Mediana	NC	1051	685	455	0
	Std	NC	292	671	395	NC
	Mín - Máx	NC	844 - 1257	301 - 1891	232 - 1376	0- 0
PD111	N	0	1	2	6	2
	Media	NC	320	448	694	386
	Mediana	NC	320	448	541	386
	Std	NC	NC	54	470	506
	Mín - Máx	NC	320 - 320	409 - 486	382 - 1642	28 - 743

Tabla 41

Partículas pequeñas de LDL, cambio porcentual medio						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	N	7	7	8	8	2
	Media	50	11	20	-9	-50
	Mediana	60	-11	17	-21	-50
	Std	42	49	29	39	43
	Mín - Máx	-9 - 115	-44 - 90	-22 - 71	-48 - 80	-80 - -19
	Valor de P	0	0,1282	0,1893	0,0205	0,0556
MD15	N	7	7	8	8	2
	Media	48	28	8	-30	-72
	Mediana	25	29	0,6	-22	-72

ES 2 401 114 T3

Partículas pequeñas de LDL, cambio porcentual medio						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Std	78	41	43	26	26
	Mín - Máx	-40 - 161	-27 - 89	-34 - 100	-63 - 2	-90 - -54
	Valor de P	0	0,9015	0,5358	0,0541	0,0556
MD22	N	7	7	8	8	2
	Media	18	5	-6	-39	-83
	Mediana	25	9	-3	-45	-83
	Std	55	35	18	24	24
	Mín - Máx	-77 - 79	-44 - 50	-45 - 13	-74 - 8	-100 - -66
	Valor de P	0	0,62	0,3357	0,0401	0,1111
MD25	N	7	7	8	8	2
	Media	11	18	6	-40	-81
	Mediana	13	6	2	-39	-81
	Std	24	41	33	20	20
	Mín - Máx	-20 - 49	-24 - 77	-36 - 67	-66 - -5	-95 - -67
	Valor de P	0	1	0,6126	0,0012	0,0556
PD39	N	7	7	8	8	2
	Media	9	40	-25	-58	-86
	Mediana	-15	12	-23	-60	-86
	Std	48	45	38	22	6
	Mín - Máx	-27 - 99	-5 - 111	-98 - 17	-89 - -15	-90 - -82
	Valor de P	0	0,1282	0,3357	0,0037	0,0556
PD55	N	7	7	8	8	2
	Media	2	16	3	-63	-80
	Mediana	17	19	-13	-65	-80
	Std	42	24	42	32	19
	Mín - Máx	-70 - 43	-22 - 55	-25 - 103	-99 - -2	-94 - -67
	Valor de P	0	0,8048	0,7789	0,0093	0,1111
PD69	N	3	4	5	7	2
	Media	13	40	-5	-27	-82
	Mediana	26	41	-8	-41	-82
	Std	33	66	16	35	11
	Mín - Máx	-25 - 38	-35 - 111	-23 - 18	-62 - 25	-90 - -74
	Valor de P	0	0,8571	0,5714	0,1167	0,2
PD83	N	2	4	7	8	2
	Media	-17	7	9	-39	-88
	Mediana	-17	30	2	-49	-88
	Std	13	74	26	33	18
	Mín - Máx	-26 - -8	-100 - 67	-22 - 59	-89 - 12	-100 - -75
	Valor de P	0	0,5333	0,1111	0,5333	0,3333
PD97	N	0	2	5	8	1

ES 2 401 114 T3

Partículas pequeñas de LDL, cambio porcentual medio						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Media	NC	131	-0,2	-33	-100
	Mediana	NC	131	2	-46	-100
	Std	NC	4	28	40	0
	Mín - Máx	NC	128 - 134	-41 - 34	-69 - 45	-100 - -100
PD111	N	0	1	2	6	2
	Media	NC	-40	32	-15	-74
	Mediana	NC	-40	32	-38	-74
	Std	NC	0	51	48	30
	Mín - Máx	NC	-40 - -40	-4 - 68	-48 - 73	-96 - -53

Tabla 42

Subclase de LDL pequeñas de colesterol LDL, resumen, mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
Valor de referencia	N	7	8	8	9	4
	Media	54	24	51	50	52
	Mediana	35	28	39	51	45
	Std	51	18	35	17	31
	Mín - Máx	23 - 168	0 - 52	15- 127	27 - 83	24 - 94
	Valor de P		0,2319	0,7167	0,351	0,6485
MD8	N	7	7	8	8	2
	Media	70	28	57	47	42
	Mediana	60	30	51	41	42
	Std	40	15	34	25	50
	Mín - Máx	39 - 157	1 - 47	25 - 132	29 - 105	7 - 77
	Valor de P		0,0023	0,3969	0,1206	0,8889
MD15	N	7	8	8	8	2
	Media	71	28	50	35	23
	Mediana	53	26	37	36	23
	Std	52	23	32	13	28
	Mín - Máx	14 - 166	0 - 67	24 - 124	20 - 57	3 - 44
	Valor de P		0,0939	0,281	0,1206	0,2222
MD22	N	7	8	8	8	2
	Media	59	27	49	31	16
	Mediana	51	26	44	28	16
	Std	41	22	35	15	23
	Mín - Máx	6 - 136	0 - 57	12 - 122	14 - 62	0 - 32
	Valor de P		0,152	0,6126	0,1206	0,1111
MD25	N	7	8	8	8	2
	Media	59	26	52	31	17
	Mediana	38	24	44	30	17

ES 2 401 114 T3

Subclase de LDL pequeñas de colesterol LDL, resumen, mg/dL						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Std	52	17	35	13	21
	Mín - Máx	19 - 170	2 - 49	15 - 130	19 - 55	2 - 32
	Valor de P	0	0,0721	0,9551	0,2319	0,3333
PD39	N	7	8	8	8	2
	Media	54	31	42	21	10
	Mediana	38	30	38	21	10
	Std	42	24	34	9	10
	Mín - Máx	20 - 141	2 - 70	0 - 119	6 - 36	3 - 17
	Valor de P		0,3357	0,7789	0,0154	0,0556
PD55	N	7	8	8	8	2
	Media	53	29	49	18	17
	Mediana	39	28	35	17	17
	Std	42	22	35	14	20
	Mín - Máx	7 - 136	1 - 62	28 - 132	1 - 41	2 - 31
	Valor de P		0,2319	0,6943	0,0541	0,2222
PD69	N	3	4	5	7	2
	Media	67	21	54	35	15
	Mediana	35	23	54	33	15
	Std	58	14	34	16	14
	Mín - Máx	33 - 134	2 - 35	17 - 108	21 - 67	6 - 25
	Valor de P		0,2286	1	0,4167	0,2
PD83	N	2	4	7	8	2
	Media	92	32	56	31	12
	Mediana	92	39	56	25	12
	Std	102	22	37	17	17
	Mín - Máx	20 - 164	0 - 51	18 - 131	6 - 63	0 - 24
	Valor de P		0,8	0,8889	0,7111	0,6667
PD97	N	0	2	5	8	1
	Media	NC	63	55	36	0
	Mediana	NC	63	43	27	0
	Std	NC	17	43	23	NC
	Mín - Máx	NC	51 - 75	19 - 121	14 - 81	0 - 0
PD111	N	0	1	2	6	2
	Media	NC	19	28	42	24
	Mediana	NC	19	28	33	24
	Std	NC	,	3	28	31
	Mín - Máx	NC	19 - 19	26 - 30	24 - 99	2 - 45

Tabla 43

Subclase de LDL pequeñas de colesterol LDL, % del valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
MD8	N	7	7	8	8	2
	Media	54	13	21	-8	-50
	Mediana	70	0	16	-21	-50
	Std	43	51	27	41	45
	Mín - Máx	-7 - 117	-48 - 92	-16 - 70	-50 - 85	-82 - -18
	Valor de P		0,1282	0,152	0,0205	0,0556
MD15	N	7	7	8	8	2
	Media	49	30	8	-30	-72
	Mediana	27	30	-0,7	-22	-72
	Std	78	43	42	27	26
	Mín - Máx	-40 - 160	-29 - 90	-31 - 97	-64 - 3	-91 - -54
	Valor de P		0,9015	0,4634	0,0541	0,0556
MD22	N	7	7	8	8	2
	Media	19	5	-7	-39	-83
	Mediana	28	10	-4	-44	-83
	Std	56	33	18	25	24
	Mín - Máx	-75 - 80	-40 - 51	-41 - 13	-74 - 10	-100 - -66
	Valor de P		0,62	0,351	0,0401	0,1111
MD25	N	7	7	8	8	2
	Media	11	19	6	-39	-81
	Mediana	11	0,9	0	-38	-81
	Std	22	43	34	20	21
	Mín - Máx	-14 - 48	-24 - 80	-36 - 68	-66 - -3	-96 - -66
	Valor de P		1	0,7789	0,0012	0,0556
PD39	N	7	7	8	8	2
	Media	10	42	-22	-57	-86
	Mediana	-12	13	-19	-61	-86
	Std	47	47	37	23	7
	Mín - Máx	-28 - 100	-5 - 110	-97 - 17	-89 - -12	-91 - -82
	Valor de P		0,1282	0,2319	0,0037	0,0556
PD55	N	7	7	8	8	2
	Media	2	15	3	-62	-80
	Mediana	17	19	-12	-64	-80
	Std	43	24	39	33	19
	Mín - Máx	-70 - 45	-20 - 56	-26 - 93	-99 - 1	-94 - -67
	Valor de P		0,8048	0,9551	0,0093	0,1111
PD69	N	3	4	5	7	2
	Media	18	40	-4	-27	-79
	Mediana	28	43	-2	-40	-79

Subclase de LDL pequeñas de colesterol LDL, % del valor de referencia						
Día del estudio		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	Std	35	67	16	35	8
	Mín - Máx	-20 - 47	-37 - 110	-23 - 16	-64 - 18	-85 - -74
	Valor de P		0,8571	0,3929	0,1167	0,2
PD83	N	2	4	7	8	2
	Media	-15	6	11	-39	-87
	Mediana	-15	30	4	-48	-87
	Std	18	73	26	33	18
	Mín - Máx	-28 - -3	-100 - 65	-21 - 62	-88 - 10	-100 - -74
	Valor de P		0,5333	0,2222	0,4	0,3333
PD97	N	0	2	5	8	1
	Media	NC	124	3	-33	-100
	Mediana	NC	124	2	-46	-100
	Std	NC	7	28	39	NC
	Mín - Máx		120 - 129	-38 - 36	-68 - 42	-100 - -100
PD111	N	0	1	2	6	2
	Media	NC	-42	35	-14	-74
	Mediana	NC	-42	35	-37	-74
	Std	NC	0	53	48	31
	Mín - Máx		-42 - -42	-3 - 72	-47 - 75	-95 - -52

Resumen farmacodinámico

Los datos presentados en este documento muestran que el tratamiento con ISIS 301012 da como resultado una reducción dependiente de la dosis de la apolipoproteína B, el colesterol LDL y el colesterol total en suero. Las reducciones de los niveles séricos de colesterol LDL, tal y como se muestran en las Tablas 22 y 23, se observaron durante todo el período de tratamiento, y al final del período de tratamiento variando desde aproximadamente 20% en el grupo de 100 mg hasta más de 30% en los grupos de 200 mg y 400 mg. Las reducciones en los niveles séricos de apolipoproteína B, tal y como se muestran en las Tablas 24 y 25, también se observaron durante todo el período de tratamiento, y al final del período de tratamiento variando desde aproximadamente 15% en el grupo de 50 mg hasta más de 40% en los grupos de 200 mg y 400 mg. Los niveles totales de colesterol en el suero se redujeron de manera similar al final del tratamiento, aproximadamente el 15% en el grupo de 100 mg y más de aproximadamente el 25% en los grupos de 200 mg y 400 mg. Los individuos con mayores niveles de valor de referencia en el suero de colesterol LDL y de apolipoproteína B, experimentaron mayores reducciones porcentuales en estos lípidos, en comparación con los individuos con menores niveles de valor de referencia en suero de colesterol LDL y de apolipoproteína B.

Duración del efecto: 2 semanas

Las reducciones de los niveles en suero de colesterol LDL, colesterol total y apolipoproteína B se mantuvieron el día PD39, dos semanas después de MD25. El colesterol LDL en suero se redujo aproximadamente un 20%, 35% y 45% en los grupos de 100 mg, 200 mg y 400 mg, respectivamente. La apolipoproteína B en suero se redujo en aproximadamente un 20%, 35% y 50% en los grupos de 100 mg, 200 mg y 400 mg, respectivamente. El colesterol total en suero disminuyó de forma similar, en aproximadamente 15%, 25% y 30% en los grupos de 100 mg, 200 mg y 400 mg, respectivamente.

Duración del efecto: 30 Días

La duración del efecto se prolongó, con reducciones significativas en varios parámetros lipídicos observados 30 días después de MD25. Un resumen de estas reducciones se ilustra en la Tabla 44, en donde se muestra el cambio porcentual medio del valor de referencia para varios parámetros lipídicos. Los datos se expresan como cambio porcentual medio respecto al valor de referencia. "Std" indica la desviación estándar. No se realizaron

estadísticas formales en la cohorte de 400 mg debido al tamaño pequeño de la muestra (n=2). "N" indica el número de sujetos evaluados en cada cohorte.

Tabla 44

Cambio porcentual medio el día PD55						
Parámetro lipídico		Placebo	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
	N	7	8	8	8	2
Colesterol LDL	Media	-1	-6	-20	-34	-41
	Std	15	8	17	19	3
	Valor de P		0,8665	0,0939	0,0022	0,0556
Apolipoproteína B	Media	-11	-14	-28	-42	-47
	Std	29	13	15	14	9
	Valor de P		0,1893	0,0541	0,0205	0,2222
Colesterol Total	Media	10	2	-15	-23	-31
	Std	14	7	8	14	6
	Valor de P		0,4634	0,0003	0,0006	0,0556
Colesterol HDL	Media	10	11	1	7	25
	Std	18	17	9	9	30
	Valor de P		0,8421	0,4448	0,9294	0,3056
Triglicéridos	Media	1	-1	37	-27	-32
	Std	38	30	60	20	2
	Valor de P		0,7789	0,2319	0,0541	0,0556

5 Duración del efecto: Tres Meses

Durante el período de evaluación posterior al tratamiento, la apolipoproteína B en suero y el colesterol LDL estaban 20-25% por debajo del nivel de referencia, tres meses después de MD25 en las cohortes de dosis de 200 mg y 400 mg. Estos resultados son compatibles con la semivida tisular larga de ISIS 301012, que se estimó en aproximadamente 31 días en la cohorte de dosis de 200 mg. Los triglicéridos, el colesterol VLDL y la lipoproteína (a) en suero también parecen reducirse. El colesterol HDL en suero no se vio afectado.

Análisis farmacocinético

Se realizó un análisis farmacocinético no compartimental de ISIS 301012 en cada grupo de datos de un sujeto individual. Las concentraciones plasmáticas de ISIS 301012 se midieron por ELISA basado en hibridación con PPD Development (Richmond, VA). La concentración de fármaco máxima observada ($C_{m\acute{a}x}$) y el tiempo tomado para la alcanzar $C_{m\acute{a}x}$ ($T_{m\acute{a}x}$) se obtuvieron directamente a partir de los datos de concentración-tiempo. La semivida plasmática en la disposición ($t_{1/2\lambda_z}$) asociada con la fase de eliminación terminal aparente se calcula a partir de la ecuación, $t_{1/2\lambda_z} = 0,693/\lambda_z$, en donde λ_z es la constante de la tasa terminal asociada con la fase de eliminación terminal aparente. La constante de la tasa de eliminación terminal se calcula mediante regresión log-lineal de los 3 últimos puntos o más de concentración y tiempo. La semivida aparente en la distribución se calculó a partir de una ecuación similar, utilizando la constante de la tasa de eliminación aparente, en lugar de la constante de la tasa de eliminación terminal. La constante de la tasa de distribución aparente se calcula mediante regresión log-lineal de los puntos de la fase de distribución. Después de la dosificación individual, se calculó un área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo, desde el tiempo cero (predosis) hasta el tiempo infinito (AUC_{∞}) usando la regla trapezoidal lineal y la extrapolación al infinito, dividiendo la última concentración medible ($C_{\acute{u}ltima}$) por λ_z . Después de la dosificación múltiple, el área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo durante el tiempo de cada intervalo de dosificación (τ), en el estado estacionario (AUC_{τ}), se calculó usando la regla trapezoidal lineal. Además, se calcularon las áreas parciales bajo la curva de concentración plasmática-tiempo desde el tiempo cero (predosis) a tiempos seleccionados (t), después del comienzo de la infusión intravenosa o subcutánea (AUC_{τ}) usando la regla trapezoidal lineal. El aclaramiento plasmático (CL) se calculó a partir de $CL = \text{Dosis real}/AUC_{iv}$. El volumen de distribución en el estado estacionario [$V_{ss} = (AUMC_{iv} * \text{Dosis real}) / (AUC_{iv})^2$; en donde $AUMC_{iv}$ es el área bajo la curva del primer momento después de una infusión intravenosa] también se calculó. El tiempo de absorción medio después de la inyección subcutánea se calculó restando la

5 AUMCSC plasmática (curva del primer momento para inyección subcutánea) de $AUMC_{iv}$ (curva del primer momento para infusión intravenosa) estimada para cada sujeto, y se refiere a la medida en que ISIS 301012 fue distribuido por todo el cuerpo en concentraciones del estado estacionario. Además, las proporciones de AUC plasmática subcutánea frente a intravenosa fueron utilizadas para estimar la biodisponibilidad plasmática subcutánea (F) para cada sujeto.

La cantidad de ISIS 301012 y el oligonucleótido total excretado en la orina se determinaron a partir de la siguiente expresión:

$$Ae_t = C_{orina} \times V_{orina}$$

10 en donde Ae_t es la cantidad excretada hasta un tiempo t fijado (es decir, 24 horas), C_{orina} es la concentración del analito en la orina y V_{orina} es el volumen de orina total. El porcentaje de la dosis administrada, excretada en la orina (intacta o como oligonucleótido total) se calculó a continuación a partir de la siguiente expresión:

$$\% \text{ de dosis excretada} = (Ae_t / \text{dosis administrada}) \times 100\%$$

Resumen farmacocinético

15 El perfil farmacocinético plasmático de ISIS 301012 se determinó a partir de muestras de sangre después de la primera infusión intravenosa de 2 horas (MD1), y se resume en la Tabla 45. Los datos se presentan como media \pm desviación estándar para cada grupo de dosis. $C_{m\acute{a}x}$ = concentración plasmática máxima; $T_{m\acute{a}x}$ = tiempo para alcanzar la $C_{m\acute{a}x}$; AUC_{0-48hr} = área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo, desde el tiempo 0 hasta 48 horas después del inicio de la administración de la dosis; CL = aclaramiento plasmático; V_{ss} = volumen de distribución del estado estacionario. La biodisponibilidad después de una administración intravenosa, se supone que es del 100%.

Tabla 45

ISIS 301012 dosificado por vía intravenosa: Farmacocinéticas plasmáticas				
Grupo de dosis	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
Dosis, mg/kg para 70 kg	0,7 \pm 0,1	1 \pm 0,1	2,7 \pm 0,5	5,9 \pm 1,2
N	8	8	8	3
$C_{m\acute{a}x}$ (μ g/ml)	5 \pm 1	9 \pm 1	22 \pm 4	38 \pm 5
$T_{m\acute{a}x}$ (h)	2 \pm 0,1	2 \pm 0,1	2 \pm 0,2	2 \pm 0,2
AUC_{0-48h} (μ g*h/mL)	11 \pm 3	24 \pm 3	68 \pm 14	148 \pm 14
CL (L/h)	5 \pm 1	4 \pm 0,6	3 \pm 0,7	3 \pm 0,3
V_{ss} (L)	6 \pm 3	7 \pm 1	7 \pm 1	8 \pm 0,8
Distribución aparente $t_{1/2}$ (h)	0,7 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1	1 \pm 0,2	1,7 \pm 0,4

25 Se observaron concentraciones plasmáticas máximas ($C_{m\acute{a}x}$) dependientes de la dosis, después de infusiones intravenosas de 2 horas, al final de la infusión seguidas por una disminución bifásica. Una fase inicial de distribución relativamente rápida (la semivida de distribución aparente promedio osciló entre 0,7 y 1,7 horas) dominó el aclaramiento plasmático y estaba seguida por una fase de eliminación aparente más lenta.

30 Las farmacocinéticas plasmáticas determinadas a partir de muestras de sangre después de la última inyección subcutánea (MD22), se resumen en la Tabla 46. Los datos se presentan como media \pm desviación estándar. $C_{m\acute{a}x}$ = concentración plasmática máxima; $T_{m\acute{a}x}$ = tiempo para alcanzar la $C_{m\acute{a}x}$; AUC_{0-48hr} = área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo desde el tiempo 0 hasta 48 horas después del inicio de la administración de la dosis; $AUC_{0-\infty \text{ en ss}}$ = área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo desde el tiempo 0 hasta el infinito en el estado estacionario; %BAV = biodisponibilidad plasmática (%) después de la administración subcutánea.

Tabla 46

ISIS 301012 dosificado por vía subcutánea: Farmacocinéticas plasmáticas				
Grupo de dosis	50 mg	100 mg	200 mg	400 mg
Dosis, mg/kg para 70 kg	0,7 ±0,1	1,3 ±0,1	2,7 ±0,5	5,9 ± 1,2
N	7	8	8	2
C _{máx} (µg/ml)	1 ± 0,3	2 ± 1	3 ± 1	7
T _{máx} (h)	4 ± 2	4 ± 2	3 ± 2	7
AUC _{0-48hr} (µg*h/mL)	8 ± 2	18 ± 4	35 ± 7	109
AUC _{0-∞ en ss} (µg*h/mL)	19 ± 9	28 ± 5	63 ± 13	160
Distribución aparente t _{1/2} (h)	4 ± 1	5 ± 3	7 ± 3	8
Eliminación t _{1/2} (h)	23 ± 1	27 ± 12	31 ± 11	47
% de BAV	69 ± 9	76 ± 18	54 ± 11	78

- 5 El tiempo promedio hasta las concentraciones plasmáticas máximas (T_{máx}) después de la última inyección subcutánea (MD22) de ISIS 301012 era aproximadamente de 4 horas después de la administración de las dosis de 50 y 100 mg, y aproximadamente 3 horas después de la administración de la dosis de 200 mg. Las concentraciones plasmáticas disminuyeron más lentamente desde la concentración plasmática máxima (C_{máx}) después de la inyección subcutánea, en comparación con la infusión intravenosa, indicando una absorción continuada de ISIS 301012 tras la consecución de la C_{máx}. Las concentraciones plasmáticas máximas (C_{máx}) variaron desde aproximadamente 1 a 3 µg/mL (50 mg a 200 mg) y eran dependientes de la dosis, en el intervalo de dosis subcutánea estudiada, pero fueron mucho menores en comparación con las dosis equivalentes de infusión intravenosa. C_{máx}, T_{máx}, AUC plasmática después de la primera dosis subcutánea de ISIS 301012 fueron similares a las mostradas en la Tabla 46, después de la última dosis subcutánea. La concentración plasmática de fármaco se redujo al menos 10 veces en 24 horas. La fase de eliminación terminal observada en el plasma proporcionaba una medida de la tasa de eliminación tisular, por lo tanto la semivida de eliminación representa el momento en el que se aclaró aproximadamente el 50% de ISIS 301012 desde los tejidos. La caracterización de la fase de eliminación terminal produjo una semivida de eliminación de aproximadamente 23 (+1) a 31 (±11) días (véase la Tabla 46). Este resultado es compatible con la eliminación lenta de ISIS 301012 observada desde los tejidos de mono, y por lo tanto, parece reflejar un equilibrio del oligonucleótido entre el plasma y el tejido. La biodisponibilidad plasmática absoluta (BAV) de ISIS 301012 después de la administración subcutánea fue de 54% a 78%, en comparación con la infusión intravenosa, y era independiente de la dosis. La BAV plasmática puede subestimar la absorción final completa de ISIS 301012, ya que estudios en primates no humanos han mostrado que la dosis completa se distribuye en última instancia a los tejidos, de tal manera que no hay diferencia entre la administración intravenosa y la subcutánea con respecto a las concentraciones finales de fármaco en los órganos.
- 25 La excreción promedio de oligonucleótido total en la orina fue menor del 8% en las primeras 24 horas. La excreción de los metabolitos de cadena corta era evidente. Los datos de la excreción de orina indican que ISIS 301012 se distribuye principalmente a los tejidos. La eliminación final es una combinación de metabolismo de nucleasas y excreción en la orina.

Relaciones exposición-respuesta

- 30 La correlación entre las concentraciones plasmáticas de ISIS 301012, proteína apolipoproteína B en suero y colesterol LDL, se muestra en la Tabla 47. La apolipoproteína B sérica, el colesterol LDL y el colesterol total se presentan como porcentaje del valor de referencia. Los números entre paréntesis después del valor de referencia porcentual de apolipoproteína B, indican el número de muestras utilizadas para calcular la media; y todas las otras medias se calcularon usando el número de muestras en la columna "N".

35

Tabla 47

Relación exposición-respuesta: Nivel plasmático de ISIS 301012, proteína apolipoproteína B y colesterol LDL en el grupo de tratamiento de 200 mg					
Día del estudio	N	ISIS 301012 ng/dL	Apolipoproteína B % del valor de referencia	Colesterol LDL % del valor de referencia	Colesterol total % del valor de referencia
MD1	9	0,5	96	93	99
MD8	8	18	92	86	90
MD15	8	16	68	71	77
MD22	8	21	66	68	76
MD25	8	30	50	69	76
PD39	8	15	61	65	74
PD55	8	8,7	58	66	76
PD69	6	6,1	64	73	76
PD83	7	5,2	70	79	83
PD97	5	4,7	76 (7)	82	87
PD111	4	5,1	77 (6)	80	81

5 Tal y como se muestra en la Tabla 47, la exposición total del tejido, representada por las concentraciones plasmáticas de ISIS 301012 (medidas por lo menos 72 horas después de la dosificación durante y después del período de tratamiento de dosis múltiple) estaba muy correlacionada con los niveles séricos de la proteína apolipoproteína B y los niveles de colesterol LDL, los cuales respondían en forma similar de dosis-respuesta. Los incrementos en la AUC plasmática fueron ligeramente superiores más que proporcionales a la dosis. Una reducción significativa de la proteína apolipoproteína B ($p < 0,02$) desde el valor de referencia, para el grupo de tratamiento de 200 mg, se consiguió desde el día 15 (MD 15) hasta el día 97 (PD 72, o 75 días después de la última dosis), en consonancia con la lenta eliminación de ISIS 301012 en el plasma ($t_{1/2}$ de eliminación terminal de aproximadamente 31 días).

15 Una comparación de las reducciones en suero frente a la AUC plasmática mínima, en 26 sujetos tratados con ISIS 301012 al final del período de dosificación múltiple (MD25), reveló una correlación directa entre la AUC mínima y las reducciones observadas en los niveles de proteína apolipoproteína B en suero, colesterol LDL y colesterol total ($r \geq 0,67$, $p \leq 0,0002$) (Figura 1). Esta correlación es compatible con el hecho de que la AUC mínima es una representación de las concentraciones hepáticas, como resultado del equilibrio alcanzado entre la concentración de fármaco en el plasma y en el hígado. También se observó una correlación entre las concentraciones plasmáticas mínimas y las reducciones en suero, cuando las concentraciones plasmáticas mínimas ($C_{mínima}$; concentración mínima media determinada a partir de los niveles en plasma, justo antes de la dosificación los días MD15 y MD22) se compararon con las reducciones en suero de apolipoproteína B, colesterol LDL y colesterol total. La $C_{mínima}$ y la AUC mínima se correlacionan con reducciones en los parámetros lipídicos, demostrando que cuando aumentaba la exposición a ISIS 301012, la apolipoproteína B en suero, el colesterol LDL y el colesterol total disminuían.

25 La relación entre los niveles séricos de proteína apolipoproteína B y las concentraciones plasmáticas mínimas de ISIS 301012 se describe con un modelo de efecto inhibidor sigmoideo $E_{máx}$, usando los datos recogidos 3 días después de la dosificación. La EC_{50} plasmática estimada y las concentraciones hepáticas estimadas basadas en estudios previos con primates no humanos, eran de 18 (± 2) ng/mL y 60 μ g/g, respectivamente. La concentración plasmática mínima aumenta después de dosis múltiples de ISIS 301012, lo que refleja la acumulación de ISIS 301012 en el hígado; los aumentos fueron de 2 veces después de la dosis de carga de ISIS 301012 y de 5 veces después de la última dosis de ISIS 301012. Las farmacocinéticas plasmáticas en mono y ser humano de ISIS 301012 son esencialmente superponibles a dosis equivalentes de mg/kg. Utilizando estas similitudes de PK conocidas, la medición de las concentraciones de fármaco en la fase de eliminación terminal en estudios clínicos en humanos, se puede emplear para evaluar la acumulación en el hígado. Estos cálculos se muestran en la Tabla 48. Las concentraciones hepáticas de ISIS 301012 se estiman basándose en los datos de mono. Las concentraciones plasmáticas promedio en mono representan un promedio de 6 animales y se midieron 48 a 72 horas después de la última dosis, en un estudio toxicológico de 13 semanas con dosis repetidas (por ejemplo, el estudio descrito en el Ejemplo 2). Los datos de la concentración plasmática mínima humana se obtuvieron 72 horas después de la última dosis de carga intravenosa; el número de sujetos del estudio se indica entre paréntesis. Las concentraciones hepáticas en el mono representan un promedio de 4-6 animales y se midieron en tejidos recogidos 48 horas después de la última dosis, en un estudio toxicológico de 13 semanas con dosis repetidas.

Tabla 48

ISIS 301012: Farmacocinéticas plasmáticas en mono y ser humano		
Dosis/Ruta	C _{mínima} plasmática (ng/dL)	Conc. hepática real (µg/g)
Mono		
3,5 mg/kg/semana/i.v.	28	100 ± 59
7 mg/kg/semana/i.v.	107	293 ± 105
21 mg/kg/semana/i.v.	292	584 ± 129
35 mg/kg/semana/s.c.	570	1129 ± 242
Ser Humano		
	C _{mínima} plasmática (ng/dL)	Conc. hepática estimada (µg/g)
50 mg/semana/i.v./s.c.	24 (n=5)	10
100 mg/semana/i.v./s.c.	8 (n=3)	28
200 mg/semana/i.v./s.c.	18 (n=6)	60
400 mg/semana/i.v./s.c.	40 (n=2)	150

5 La AUC plasmática mínima para los grupos de dosis de 50 mg, 100 mg, 200 mg y 400 mg se encontró que era 3, 5, 12 y 18 µg·h/mL, respectivamente, el MD25 (tres días después de la dosis final durante el período de dosificación múltiple).

10 La reducción de los niveles de colesterol LDL en un ser humano proporciona un medio para tratar, prevenir y/o mejorar la cardiopatía coronaria. Tal y como se ha descrito anteriormente, el oligonucleótido ISIS 301012 producía reducciones sustanciales, sostenidas en suero de apolipoproteína B y colesterol LDL, así como de otros parámetros lipídicos, y es por tanto un agente útil para el tratamiento de la hipercolesterolemia.

Ejemplo 4

Tratamientos de carga y mantenimiento

15 Con el fin de tratar sujetos que padecen enfermedades relacionadas con la producción de apolipoproteína B o colesterol LDL, se analizó una serie de diferentes regímenes de cargas y de mantenimiento para estudiar su eficacia terapéutica. Los sujetos se tratan con ISIS 301012 tal y como se describe a continuación:

El grupo A recibe una fase de carga lenta, durante la cual se administran 4 dosis de 200 mg de ISIS 301012 durante 11 días. Esta fase de carga lenta está seguida por una fase de mantenimiento de 11 semanas, durante la cual se administra una dosis de 200 mg de ISIS 301012 cada dos semanas.

20 El grupo B recibe una fase de carga lenta, durante la cual se administran 4 dosis de 200 mg de ISIS 301012 durante 11 días. Esta fase de carga lenta está seguida por una fase de mantenimiento de 11 semanas, durante la cual se administra una dosis de 100 mg de ISIS 301012 cada dos semanas.

El grupo C recibe una fase de carga lenta, en la que 3 dosis de 200 mg de ISIS 301012 se administran semanalmente durante tres semanas. Esta fase de carga lenta está seguida por una fase de mantenimiento de 3 meses, durante la cual se administra una dosis de 200 mg de ISIS 301012 una vez al mes.

25 El grupo D recibe una fase de carga rápida, durante la cual se administran 3 dosis de 200 mg de ISIS 301012 durante 7 días. Esta fase de carga rápida está seguida por una fase de mantenimiento de 11 semanas, durante la cual se administra una dosis de 200 mg de ISIS 301012 cada dos semanas.

30 El grupo E recibe una fase de carga rápida, durante la cual se administran 3 dosis de 200 mg de ISIS 301012 durante 7 días. Esta fase de carga rápida está seguida por una fase de mantenimiento de 3 meses, durante la cual se administra una dosis de 200 mg de ISIS 301012 una vez al mes.

El grupo F recibe solamente una fase de mantenimiento, durante la cual se administra una dosis de 200 mg de ISIS 301012 una vez a la semana durante 13 semanas.

El grupo G recibe solamente una fase de mantenimiento, durante la cual se administra una dosis de 200 mg de ISIS 301012 una vez cada dos semanas durante 13 semanas.

35 Se descubrió que el tratamiento con ISIS 301012 de los sujetos en los grupos A, B, C, D, E, F y G proporciona beneficios terapéuticos. Los beneficios terapéuticos incluyen la reducción en suero de colesterol LDL, apolipo-

proteína B, triglicéridos, colesterol total, colesterol no HDL, colesterol VLDL, lipoproteína (a), la proporción LDL:HDL y la proporción apolipoproteína B:apolipoproteína A-1, respecto al valor de referencia. Se ha encontrado que no hay ningún cambio en los niveles de colesterol HDL. Las diferencias en la aparición y el grado de los beneficios terapéuticos se utilizan para evaluar la eficacia terapéutica de cada régimen de dosificación.

5 Ejemplo 5

Hipercolesterolemia familiar homocigótica

La hipercolesterolemia familiar (HF) es un trastorno metabólico autosómico dominante, caracterizado por colesterol LDL muy elevado y una aparición prematura de aterosclerosis. Los síntomas clínicos son el resultado del desarrollo de depósitos de colesterol LDL en la piel, los tendones (xantomas) y placas arteriales (ateromas). El principal defecto genético de la FH es una mutación en el gen del receptor de LDL (LDL-R). El LDL-R facilita la captación de colesterol LDL en las células del hígado, en donde es metabolizado, dando lugar a la liberación de colesterol para uso metabólico. Defectos en el LDL-R dan como resultado una absorción ineficaz del colesterol LDL, que a su vez conduce a un aclaramiento plasmático retrasado del colesterol LDL. La mayor permanencia del colesterol LDL en el plasma permite su absorción por fagocitos y otras células, que depositan el colesterol LDL externo y se producen xantomas y ateromas.

La prevalencia de individuos homocigotos en todo el mundo es de 1:1.000.000; aproximadamente 300 sujetos HF homocigóticos residen en los Estados Unidos. Debido al efecto fundador, algunos países tienen una tasa de prevalencia más alta, por ejemplo, Canadá francófona, Sudáfrica, Finlandia e Islandia. Casi todos los sujetos con HF homocigótica desarrollan xantomas con 5 años de edad y aterosclerosis antes de la edad adulta. A pesar del tratamiento con las actuales terapias reductoras del colesterol, son pocos los sujetos con HF homocigótica que logran los objetivos del tratamiento. Por lo tanto, los sujetos HF homocigóticos necesitan otras opciones terapéuticas.

ISIS 301012 es proporcionado a sujetos adultos con HF como una solución de 200 mg/mL en 1 ml de volumen total y se administra por vía subcutánea como una única inyección en el abdomen o en el muslo. En algunos individuos, la dosis se divide y se administra como 2 o 3 inyecciones no seguidas en el abdomen o en el muslo.

Un total de 12 dosis de ISIS 301012 se administran por vía subcutánea o intravenosa. La primera dosis se administra el día 1 del estudio, mientras que las 11 dosis restantes se administran comenzando el día 8 y a continuación de forma semanal, en donde los sujetos reciben una dosis de 200 mg de ISIS 301012.

Un grupo de sujetos HF pediátricos (con edades de 8 a 17 años) también se tratan, en donde la dosificación se basa en el peso corporal en el momento del examen. Los sujetos pediátricos que pesan al menos 25 kg pero menos de 37,5 kg, reciben una primera dosis de ISIS 301012 de 50 mg, seguida de una dosis de ISIS 301012 de 100 mg durante el resto del estudio. Los sujetos que pesan por lo menos 37,5 kg pero menos de 50 kg, reciben una primera dosis de 100 mg, seguida de dosis semanales de 150 mg durante el resto del estudio. Sujetos pediátricos que pesan más de 50 kg, reciben la dosis de adulto descrita anteriormente.

Después de la pauta de tratamiento, se encuentra que cada sujeto tiene niveles reducidos de colesterol LDL, terapéuticamente relevantes, en relación con el valor de referencia (pretratamiento) de colesterol LDL. También se encuentra que los sujetos han reducido los niveles en suero de proteína apolipoproteína B, triglicéridos, colesterol VLDL, lipoproteína (a) y colesterol total, en comparación con el valor de referencia. En consecuencia, ISIS 301012 proporciona un beneficio terapéutico a los individuos tratados con este compuesto.

40 Ejemplo 6

Hipercolesterolemia familiar heterocigótica

La prevalencia de individuos que son heterocigotos para la hipercolesterolemia familiar es aproximadamente de 1:500, residiendo aproximadamente 500.000 sujetos heterocigotos para HF en los Estados Unidos. Mientras que los sujetos HF homocigóticos tienen dos copias de un alelo mutado del receptor de LDL, los HF heterocigóticos tienen un alelo mutado del receptor de LDL. Los sujetos HF heterocigóticos generalmente desarrollan xantomas en la 3ª década de la vida y aterosclerosis en la 4ª década. Aproximadamente el 30% de las personas diagnosticadas con HF ya tiene antecedentes de enfermedad cardiovascular. A pesar de la terapia máxima, aproximadamente el 20% de estos sujetos son incapaces de alcanzar los objetivos del tratamiento. Por lo tanto, los sujetos HF heterocigóticos se consideran una población que necesita tratamientos alternativos para reducir el colesterol. Por esta razón, los sujetos HF heterocigóticos se eligen para el tratamiento con ISIS 301012.

Las dosis de ISIS 301012 se administran en forma de inyección subcutánea en el abdomen o en el muslo, una vez a la semana durante 12 semanas. La primera dosis de ISIS 301012 se administra como una dosis de 100 mg. Si los sujetos toleran el fármaco del estudio durante la primera semana, todas las dosis posteriores de ISIS 301012 son de 200 mg (semanas 2 a 12). ISIS 301012 se suministra como un 1 mL de una solución de 200

mg/mL y las dosis de 100 y 200 mg de ISIS 301012 se administran en volúmenes de 0,5 y 1,0 mL, respectivamente.

5 Después de la pauta de tratamiento, se encuentra que cada sujeto tiene niveles reducidos de colesterol LDL, terapéuticamente relevantes, en relación con el valor de referencia (pretratamiento) del colesterol LDL. También se encuentra que los sujetos han reducido los niveles en suero de proteína apolipoproteína B, triglicéridos, colesterol VLDL, lipoproteína (a) y colesterol total, en comparación con el valor de referencia. En consecuencia, ISIS 301012 proporciona un beneficio terapéutico a los individuos tratados con este compuesto.

Ejemplo 7

Concentración plasmática mínima objetivo

10 Un sujeto humano que tiene niveles elevados de colesterol es tratado con el oligonucleótido ISIS 301012 dirigido a la apolipoproteína B. Al sujeto se administran primero dosis de carga de ISIS 301012, que se calculan para que den como resultado una concentración plasmática mínima de al menos 5 ng/dL. En este caso, el sujeto recibe una fase de carga lenta, durante la cual se administran 4 dosis de ISIS 301012 de 200 mg durante 11 días. Después de la fase de carga lenta, el sujeto es tratado con dosis de mantenimiento de ISIS 301012, que se calculan para dar como resultado una concentración plasmática mínima de al menos 5 ng/dL. En este caso, el
15 sujeto es tratado semanalmente con dosis de mantenimiento de ISIS 301012 de 200 mg. Las concentraciones plasmáticas se determinan con el análisis farmacocinético de muestras de sangre recogidas durante y después de los períodos de dosificación. Después de varios meses de tratamiento, el sujeto solo recibe tratamientos mensuales o trimestrales con concentraciones apropiadas de ISIS 301012, con el fin de mantener una concentración plasmática mínima de al menos 5 ng/dL.
20

Otros sujetos reciben dosis de una fase de carga rápida, que se calculan para dar como resultado una concentración plasmática mínima de al menos 5 ng/dL. En este caso, el sujeto recibe 3 dosis de ISIS 301012 de 200 mg que se administran más de 7 días. Después de la fase de carga rápida, el sujeto es tratado con dosis de mantenimiento de ISIS 301012, que se calculan para dar como resultado una concentración plasmática mínima de al menos 5 ng/dL. En este caso, el sujeto es tratado semanalmente con dosis de mantenimiento de ISIS
25 301012 de 200 mg. Las concentraciones plasmáticas se determinan con el análisis farmacocinético de muestras de sangre recogidas durante y después de los períodos de dosificación. Después de varios meses de tratamiento, el sujeto solo recibe tratamientos mensuales o trimestrales con concentraciones apropiadas de ISIS 301012, con el fin de mantener una concentración plasmática mínima de al menos 5 ng/dL. Se descubrió que tratando al
30 sujeto para que tenga una concentración plasmática mínima de 5 ng/dL, da como resultado una reducción superior al 10% en niveles en suero de apolipoproteína B, colesterol LDL, triglicérido y colesterol total.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Geary, Richard S.
Yu, Zhengrong
Crooke, Rosanne M.

5 <120> METODOS PARA MODULAR LOS NIVELES DE LIPOPROTEÍNA Y COLESTEROL EN SERES HUMANOS

<130> ISIS.009VPC

<150> 60/612.831
<151> 2004-09-23

10 <150> 60/600.785
<151> 10-08-2004

<160> 3

<170> FastSEQ para Windows Versión 4.0

15 <210> 1
<211> 14121
<212> ADN
<213> H. sapiens

<400> 1

ES 2 401 114 T3

attcccaccg	ggacctgcgg	ggctgagtgc	cottctcggg	tgctgccgct	gaggagcccg	60
cccagccagc	cagggccgcg	aggccgaggc	cagggccgag	cccaggagcc	gccccaccgc	120
agctggcgat	ggaccgccc	aggcccgcgc	tgctggcgct	gctggcgctg	cctgcgctgc	180
tgctgctgct	gctggcgggg	gccagggccg	aagaggaaat	gctggaaaat	gtcagcctgg	240
tctgtccaaa	agatgcgacc	cgattcaagc	acctccggaa	gtacacatac	aactatgagg	300
ctgagagttc	cagtggagtc	cctgggactg	ctgattcaag	aagtgccacc	aggatcaact	360
gcaaggttga	gctggaggtt	ccccagctct	gcagcttcat	cctgaagacc	agccagtgca	420
ccctgaaaga	ggtgtatggc	ttcaaccctg	agggcaaagc	cttgctgaag	aaaaccaaga	480
actctgagga	gtttgctgca	gccatgtcca	ggtatgagct	caagctggcc	attccagaag	540
ggaagcaggt	tttcctttac	ccggagaaaag	atgaacctac	ttacatcctg	aacatcaaga	600
ggggcatcat	ttctgccttc	ctggttcccc	cagagacaga	agaagccaag	caagtgttgt	660
ttctggatac	cgtgtatgga	aactgctcca	ctcactttac	cgtcaagacg	aggaagggca	720
atgtggcaac	agaaatatcc	actgaaagag	acctggggca	gtgtgatcgc	ttcaagccca	780
tccgcacagg	catcagccca	cttgctctca	tcaaagggcat	gacccgcccc	ttgtcaactc	840
tgatcagcag	cagccagtcc	tgtcagtaca	cactggacgc	taagaggaag	catgtggcag	900
aagccatctg	caaggagcaa	cacctcttcc	tgcttttctc	ctacaacaat	aagtatggga	960
tggtagcaca	agtgacacag	actttgaaac	ttgaagacac	accaaagatc	aacagccgct	1020
tctttggtga	aggtactaag	aagatggggc	tcgcatttga	gagcaccaaa	tccacatcac	1080
ctccaaagca	ggccgaagct	gttttgaaga	ctctccagga	actgaaaaaa	ctaaccatct	1140
ctgagcaaaa	tatccagaga	gctaattctct	tcaataagct	ggttactgag	ctgagaggcc	1200
tcagtgatga	agcagtcaca	tctctcttgc	cacagctgat	tgaggtgtcc	agccccatca	1260
ctttacaagc	cttggttcag	tgtggacagc	ctcagtgctc	cactcacatc	ctccagtggc	1320
tgaaacgtgt	gcatgccaac	ccccttctga	tagatgtggg	cacctacctg	gtggccctga	1380
tccccgagcc	ctcagcacag	cagctgcgag	agatcttcaa	catggcgagg	gatcagcgca	1440
gccgagccac	cttgtatgcg	ctgagccacg	cggtaacaa	ctatcataag	acaaacccta	1500
cagggaccca	ggagctgctg	gacattgcta	attacctgat	ggaacagatt	caagatgact	1560
gcaactgggga	tgaagattac	acctatttga	ttctgcgggg	cattggaaat	atgggcaaaa	1620
ccatggagca	gttaactcca	gaactcaagt	cttcaatcct	caaatgtgtc	caaagtataa	1680
agccatcact	gatgatccag	aaagctgcca	tccaggctct	gcggaaatg	gagcctaaag	1740
acaaggacca	ggaggttctt	cttcagactt	tccttgatga	tgcttctccg	ggagataagc	1800
gactggctgc	ctatcttatg	ttgatgagga	gtccttcaca	ggcagatatt	aacaaaattg	1860
tccaaattct	accatgggaa	cagaatgagc	aagtgaagaa	ctttgtggct	tcccatattg	1920

ES 2 401 114 T3

ccaatatctt gaactcagaa gaattggata tccaagatct gaaaaagtta gtgaaagaag 1980
 ctctgaaaga atctcaactt ccaactgtca tggacttcag aaaattctct cggaactatc 2040
 aactctacaa atctgtttct cttccatcac ttgaccagc ctgagccaaa atagaaggga 2100
 atcttatatt tgatccaaat aactaccttc ctaaagaaag catgctgaaa actaccctca 2160
 ctgcctttgg atttgcttca gctgacctca tgcgattgg cttggaagga aaaggccttg 2220
 agccaacatt ggaagctctt tttgggaagc aaggattttt cccagacagt gtcaacaaag 2280
 ctttgtactg ggtaaatggg caagttcctg atggtgtctc taaggtctta gtggaccact 2340
 ttggctatac caaagatgat aaacatgagc aggatatggg aaatggaata atgctcagt 2400
 ttgagaagct gattaaagat ttgaaatcca aagaagtccc ggaagccaga gcctacctcc 2460
 gcatcttggg agaggagctt ggttttgcca gtctccatga cctccagctc ctgggaaagc 2520
 tgcttctgat ggggtgcccgc actctgcagg ggatccccc gatgattgga gaggtcatca 2580
 ggaagggctc aaagaatgac ttttttcttc actacatctt catggagaat gcctttgaac 2640
 tccccactgg agctggatta cagttgcaaa tatcttcate tggagtcatt gctcccggag 2700
 ccaaggctgg agtaaaactg gaagttagca acatgcaggc tgaactgggt gcaaaccct 2760
 ccgtgtctgt ggagtttggg acaaatatgg gcatcatcat tccggacttc gctaggagt 2820
 ggggtccagat ggaacaccaac ttcttccacg agtgcggctt ggaggctcat gttgccctaa 2880
 aagctgggaa gctgaagttt atcattcctt ccccaaagag accagtcaag ctgctcagt 2940
 gaggcaacac attacatttg gtctctacca ccaaaacgga ggtgatcca cctctcatt 3000
 agaacaggca gtcctgggtca gtttgcaagc aagtctttcc tggcctgaat tactgcacct 3060
 caggcgctta ctccaacgcc agctccacag actccgcctc ctactatccg ctgaccgggg 3120
 acaccagatt agagctggaa ctgaggccta caggagagat tgagcagtat tctgtcagcg 3180
 caacctatga gctccagaga gaggacagag ccttgggtgga taccctgaag tttgtaactc 3240
 aagcagaagg tgcgaagcag actgaggcta ccatgacatt caaatataat cggcagagta 3300
 tgacctgtc cagtgaagtc caaattccgg atttttagt tgacctgga acaatctca 3360
 gagttaatga tgaatctact gagggcaaaa cgtcttacag actcaccctg gacattcaga 3420
 acaagaaaat tactgaggtc gccctcatgg gccacctaag ttgtgacaca aaggaagaaa 3480
 gaaaaatcaa ggggtgttatt tccatacccc gtttgcaagc agaagccaga agtgagatcc 3540
 tgcgccactg gtcgcctgcc aaactgcttc tccaaatgga ctcatctgct acagcttatg 3600
 gctccacagt ttccaagagg gtggcatggc attatgatga agagaagatt gaatttgaat 3660
 ggaacacagg caccaatgta gataccaaaa aatgacttc caatttccct gtggatctct 3720
 ccgattatcc taagagcttg catatgtatg ctaatagact cctggatcac agagtccctg 3780
 aaacagacat gactttccgg cacgtgggtt ccaaattaat agttgcaatg agctcatggc 3840
 ttcagaaggc atctgggagt cttccttata cccagacttt gcaagaccac ctcaatagcc 3900
 tgaaggagtt caacctccag aacatgggat ctccagactt ccacatccca gaaaacctct 3960
 tcttaaaaag cgatggccgg gtcaaatata ccttgaacaa gaacagtttg aaaattgaga 4020
 ttcttttggc ttttgggtggc aaatcctcca gagatctaaa gatgttagag actgttagga 4080
 caccagccct ccacttcaag tctgtgggat tccatctgcc atctcgagag ttccaagtcc 4140
 ctacttttac cattcccaag ttgtatcaac tgcaagtgcc tctcctgggt gttctagacc 4200
 tctccacgaa tgtctacagc aacttgtaca acttggccgc ctctacagt ggtggcaaca 4260
 ccagcacaga ccatttcagc cttcgggctc gttaccacat gaaggctgac tctgtggttg 4320
 acctgctttc ctacaatgtg caaggatctg gagaaacaac atatgaccac aagaatacgt 4380
 tcacactatc atgtgatggg tctctacgcc acaaatctc agattcgaat atcaaattca 4440
 gtcattgtaga aaaacttggg aacaaccagc tctcaaaagg tttactaata ttcgatgat 4500
 ctagtctctg gggaccacag atgtctgctt cagttcattt ggactccaaa aagaacagc 4560
 atttgtttgt caaagaagtc aagattgatg ggcagttcag agtctcttctg ttctatgcta 4620
 aaggcacata tggcctgtct tgtcagaggg atcctaacac tggccggctc aatggagagt 4680
 ccaacctgag gtttaactcc tctacctcc aaggcaccaa ccagataaca ggaagatatg 4740
 aagatggaac cctctccctc acctccacct ctgatctgca aagtggcatc attaaaaata 4800
 ctgcttccct aaagtatgag aactacgagc tgactttaa atctgacacc aatgggaagt 4860
 ataagaactt tgccaacttct aacaagatgg atatgacct ctctaagcaa aatgcaactg 4920
 tgcgttctga atatcaggct gattacgagt cattgaggtt cttcagcctg ctttctggat 4980
 cactaaattc ccatggctct gagttaaatg ctgacatctt aggcactgac aaaattaata 5040
 gtgggtctca caaggcgaca ctaaggattg gccaaatgg aatatctacc agtgcaacga 5100
 ccaacttgaa gtgtagtctc ctgggtgctg agaatgagct gaatgcagag cttggcctct 5160
 ctggggcatc tatgaaatta acaacaaatg gccgcttcag ggaacacaat gcaaaattca 5220
 gtctggatgg gaaagccgcc ctcacagagc tatcactggg aagtgcttat caggccatga 5280
 ttctgggtgt cgacagcaaa aacattttca acttcaaggt cagtcaagaa ggacttaagc 5340
 tctcaaatga catgatgggc tcatatgctg aaatgaaatt tgaccacaca aacagtctga 5400
 acattgcagg cttatcactg gacttctctt caaaacttga caacatttac agctctgaca 5460
 agttttataa gcaaactgtt aatttacagc tacagcccta ttctctggta actactttaa 5520
 acagtgaact gaaatacaat gctctggatc tcaccaacaa tgggaaacta cggctagaac 5580

ES 2 401 114 T3

ccctgaagct gcatgtggct ggtaacctaa aaggagccta ccaaaataat gaaataaaac 5640
 acatctatgc catctcttct gctgccttat cagcaagcta taaagcagac actgttgcta 5700
 aggttcaggg tgtggagttt agccatcggc tcaacacaga catcgctggg ctggcttcag 5760
 ccattgacat gagcacaaac tataattcag actcactgca tttcagcaat gtcttccggt 5820
 ctgtaatggc cccgtttacc atgaccatcg atgcacatac aaatggcaat gggaaactcg 5880
 ctctctgggg agaacatact gggcagctgt atagcaaatt cctgttgaaa gcagaacctc 5940
 tggcatttac tttctctcat gattacaaag gctccacaag tcatcatctc gtgtctagga 6000
 aaagcatcag tgcagctctt gaacacaaag tcagtgcctt gcttactcca gctgagcaga 6060
 caggcacctg gaaaactcaag acccaattta acaacaatga atacagccag gacttgatg 6120
 cttacaacac taaagataaa attggcgtgg agcttacttg acgaactctg gctgacctaa 6180
 ctctactaga ctcccaatt aaagtgccac ttttactcag tgagcccatc aatatcattg 6240
 atgctttaga gatgagagat gccgttgaga agccccaaga atttacaatt gttgcttttg 6300
 taaagtatga taaaaaccaa gatgttcaact ccattaacct cccatttttt gagaccttgc 6360
 aagaatattt tgagaggaat cgacaaacca ttatagttgt agtggaaaac gtacagagaa 6420
 acctgaagca catcaatatt gatcaatttg taagaaaata cagagcagcc ctgggaaaac 6480
 tcccacagca agctaattgat tatctgaatt cattcaattg ggagagacaa gtttcacatg 6540
 ccaaggagaa actgactgct ctcaaaaaa agtatagaat tacagaaaat gatatacaaa 6600
 ttgcattaga tgatgccaaa atcaacttta atgaaaaact atctcaactg cagacatata 6660
 tgatacaatt tgatcagtat attaaagata gttatgattt acatgatttg aaaatagcta 6720
 ttgctaatat tattgatgaa atcattgaaa aattaaaaag tcttgatgag cactatcata 6780
 tccgtgtaaa tttagtataa acaatccatg atctacattt gtttattgaa aatattgatt 6840
 ttaacaaaag tggaaagtagt actgcatcct ggattcaaaa tgtggatact aagtaccaa 6900
 tcagaatcca gatacaagaa aaactgcagc agcttaagag acacatacag aatatagaca 6960
 tccagcacct agctggaaag ttaaaacaac acattgaggc tattgatggt agagtgcctt 7020
 tagatcaatt gggaactaca atttcatttg aaagaataaa tgatgttctt gagcatgtca 7080
 aacactttgt tataaatctt attggggatt ttgaagtagc tgagaaaatc aatgccttca 7140
 gagcaaaagt ccatgagtta atcgagaggt atgaagtaga ccaacaaatc caggttttaa 7200
 tggataaatt agtagagttg acccaccaat acaagttgaa ggagactatt cagaagctaa 7260
 gcaatgtcct acaacaagtt aagataaaag attactttga gaaattgggt ggatttattg 7320
 atgatgctgt gaagaagctt aatgaattat cttttaaacc attcattgaa gatgttaaca 7380
 aattccttga catggttgata aagaaattaa agtcatttga ttaccaccag tttgtagatg 7440
 aaaccaatga caaaatccgt gaggtgactc agagactcaa tggtgaaatt cagcctctgg 7500
 aactaccaca aaaagctgaa gcattaaaac tgtttttaga ggaaaccaag gccacagttg 7560
 cagtgtatct ggaaagccta caggacacca aaataacctt aatcatcaat tggttacagg 7620
 aggctttaag ttcagcatct ttggctcaca tgaaggccaa attccgagag actctagaag 7680
 atacacgaga ccgaatgtat caaatggaca ttcagcagga acttcaacga tacctgtctc 7740
 tggtaggcca ggtttatagc acaactgtca cctacatttc tgattgggtg actcttgctg 7800
 ctaagaacct tactgacttt gcagagcaat attctatcca agattgggct aaacgatga 7860
 aagcattggt agagcaaggg ttactgttcc ctgaaatcaa gaccatcctt gggacatgc 7920
 ctgcctttga agtcagctct caggctcttc agaaagctac cttccagaca cctgatttta 7980
 tagtccccct aacagatttg aggattccat cagttcagat aaacttcaa gacttaaaaa 8040
 atataaaaat cccatccagg ttttccacac cagaatttac catcctaac accttccaca 8100
 ttcttctctt tacaattgac tttgtcgaaa tgaagtaaa gatcatcaga accattgacc 8160
 agatgcagaa cagtgagctg cagtggcccg ttccagatat atatctcagg gatctgagg 8220
 tggaggacat tcctctagcg agaatcacc ttccagactt ccgtttacca gaaatcgcaa 8280
 ttccagaatt cataatccca actctcaacc ttaatgattt tcaagttcct gaccttca 8340
 taccagaatt ccagcttccc cacatctcac acacaattga agtacctact tttggcaagc 8400
 tatacagtat tctgaaaatc caatctctc ttttcacatt agatgcaaat gctgacatag 8460
 ggaatggaac cacctcagca aacgaagcag gtatcgcagc ttccatcact gccaaaggag 8520
 agtccaaatt agaagttctc aattttgatt ttcaagcaa tgcacaactc tcaaacccta 8580
 agattaatcc gctggctctg aaggagttag tgaagttctc cagcaagtac ctgagaacgg 8640
 agcatgggag tgaatgctg ttttttggaa atgctattga gggaaaatca aacacagtgg 8700
 caagtttaca cacagaaaaa aatacactgg agcttagtaa tggagtgatt gtcaagataa 8760
 acaatcagct taccctggat agcaacacta aatacttcca caaattgaac atccccaaac 8820
 tggacttctc tagtcaggct gacctgcgca acgagatcaa gacactgttg aaagtggcc 8880
 acatagcatg gacttcttct ggaaaagggt cagtgaaatg ggctgcccc agattctcag 8940
 atgagggaaac acatgaatca caaattagtt tcaccataga aggaccctc acttctcttg 9000
 gactgtccaa taagatcaat agcaaacc accaaacttg gtttatgaat 9060
 ctggctccct caacttttct aaacttgaaa ttcaatcaca agtcgattcc cagcatgtgg 9120
 gccacagtgt tctaactgct aaaggcatgg cactgtttgg agaagggag gcagagttta 9180
 ctgggaggca tgatgctcat ttaaatggaa aggttattgg aactttgaaa aattctcttt 9240

ES 2 401 114 T3

tcttttcagc	ccagccattt	gagatcacgg	catccacaaa	caatgaaggg	aatttgaaag	9300
ttcgttttcc	attaaggtta	acaggggaaga	tagacttcct	gaataactat	gcactgtttc	9360
tgagtcccag	tgcccagcaa	gcaagttggc	aagtaagtgc	taggttcaat	cagtataagt	9420
acaaccaaaa	tttctctgct	ggaaacaacg	agaacattat	ggaggcccat	gtaggaataa	9480
atggagaagc	aaatctggat	ttcttaaaca	ttcctttaac	aattcctgaa	atgogtctac	9540
cttacacaat	aatcacaact	cctccactga	aagatttctc	tctatgggaa	aaaacaggct	9600
tgaaggaatt	cttgaaaacg	acaaagcaat	catttgattt	aagtgtaaaa	gctcagtata	9660
agaaaaacaa	acacaggcat	tccatcacia	atcctttggc	tgtgctttgt	gagtttatca	9720
gtcagagcat	caaatccttt	gacaggcatt	ttgaaaaaaa	cagaaacaat	gcattagatt	9780
ttgtcaccaa	atcctataat	gaaacaaaaa	ttaagtttga	taagtacaaa	gctgaaaaat	9840
ctcacgacga	gctccccagg	acctttcaaa	ttcctggata	cactgttcca	gttgccaatg	9900
ttgaagtgtc	tccattcacc	atagagatgt	cggcattcgg	ctatgtgttc	ccaaaagcag	9960
tcagcatgcc	tagtttctcc	atcctagggt	ctgacgtccg	tgtgccttca	tacacattaa	10020
tcctgccatc	attagagctg	ccagtccttc	atgtccctag	aaatctcaag	ctttctcttc	10080
cacatttcaa	ggaattgtgt	accataagcc	atatttttat	tcctgccatg	ggcaatatta	10140
cctatgattt	ctcctttaaa	tcaagtgtca	tcacactgaa	taccaatgct	gaacttttta	10200
accagtcaga	tattgttgct	catctccttt	cttcatcttc	atctgtcatt	gatgcactgc	10260
agtacaaatt	agagggcacc	acaagattga	caagaaaaag	gggattgaag	ttagccacag	10320
ctctgtctct	gagcaacaaa	tttgtggagg	gtagtataaa	cagtactgtg	agcttaacca	10380
cgaaaaatat	ggaagtgtca	gtggcaaaaa	ccacaaaagc	cgaaattcca	atthtgagaa	10440
tgaatttcaa	gcaagaactt	aatggaaata	ccaagtcaaa	acctactgtc	tcttccctcca	10500
tggaaattaa	gtatgatttc	aattcttcaa	tgctgtactc	taccgctaaa	ggagcagttg	10560
accacaagct	tagcttgaaa	agcctcacct	cttacttttc	cattgagtca	tctaccaaag	10620
gagatgtcaa	gggttcgggt	ctttctcggg	aatattcagg	aactattgct	agtgaggcca	10680
acacttactt	gaattccaag	agcacacggt	cttcagttaa	gctgcagggc	acttccaaaa	10740
ttgatgatat	ctggaacctt	gaagtaaaag	aaaatthtgc	tggagaagcc	acactccaac	10800
gcataatatt	cctctgggag	cacagtacga	aaaaccactt	acagctagag	ggcctctttt	10860
tcaccaacgg	agaacataca	agcaaagcca	ccctggaact	ctctccatgg	caaatgtcag	10920
ctcttgttca	ggtccatgca	agtcagccca	gttccctcca	tgatttcctt	gaccttggcc	10980
aggaagtggc	cctgaatgct	aacactaaga	accagaagat	cagatggaaa	aatgaagtcc	11040
ggattcattc	tgggtctttc	cagagccagg	tcgagctttc	caatgaccaa	gaaaaggcac	11100
accttgacat	tgcaggatcc	ttagaaggac	acctaaggtt	cctcaaaaaat	atcatcctac	11160
cagtctatga	caagagctta	tgggattttcc	taaagctgga	tgtaaccacc	agcatttggt	11220
ggagacagca	tcttctgtgt	tcaactgcct	ttgtgtacac	caaaaacccc	aatggctatt	11280
cattctccat	cctgttaaaa	gttttgctgt	ataaattcat	tactcctggg	ctgaaactaa	11340
atgatctaaa	ttcagttctt	gtcatgccta	cgttccatgt	cccatttaca	gatcttcagg	11400
ttccatogtg	caaacttgac	ttcagagaaa	tacaaatcta	taagaagctg	agaacttcat	11460
catttgcctt	caacctacca	acactccccg	aggtaaaatt	ccctgaagtt	gatgtgttaa	11520
caaaatattc	tcaaccagaa	gactccttga	ttcccttttt	tgagataacc	gtgcctgaa	11580
ctcagttaac	tgtgtccag	ttcacgcttc	caaaaagtg	ttcagatggc	attgctgctt	11640
tggatctaaa	tgcagtagcc	aacaagatcg	cagactttga	gttgccacc	atcatcgtgc	11700
ctgagcagac	cattgagatt	coctccatta	agttctctgt	acctgctgga	attgtcattc	11760
cttcccttca	agcactgact	gcacgctttg	aggtagactc	tcccgtgat	aatgccactt	11820
ggagtgccag	tttgaaaaac	aaagcagatt	atgthgaaac	agtcctggat	tccacatgca	11880
gctcaaccgt	acagttccta	gaatatgaac	taaagttttt	gggaacacac	aaaatcgaag	11940
atggtacggt	agcctctaag	actaaaggaa	cacttgcaaa	ccgtgacttc	agtgcagaat	12000
atgaagaaga	tggcaaatth	gaaggacttc	aggaattggg	aggaaaagcg	cacctcaata	12060
tcaaaagccc	agcgttcacc	gatctccatc	tgcgctacca	gaaagacaag	aaaggcatct	12120
ccacctcagc	agcctoccca	gccgtaggca	ccgtgggcat	ggatatggat	gaagatgacg	12180
acttttctaa	atggaacttc	tactacagcc	ctcagtcctc	tccagataaa	aaactcacca	12240
tattcaaaaac	tgagttgagg	gtccgggaat	ctgatgagga	aaactcagatc	aaagttaatt	12300
gggaagaaga	ggcagcttct	ggcttgctaa	cctctctgaa	agacaaagtg	cccaaggcca	12360
caggggtcct	ttatgattat	gtcaacaagt	accactggga	acacacaggg	ctcaccctga	12420
gagaagtgtc	ttcaaagctg	agaagaaatc	tgcagaacaa	tgctgagtg	gtttatcaag	12480
gggccattag	gcaaatgtat	gatatcgacg	tgaggttcca	gaaagcagcc	agtggcacca	12540
ctgggacct	ccaagagtgg	aaggacaagg	cccagaatct	gtaccaggaa	ctgttgactc	12600
aggaaggcca	agccagtttc	cagggactca	aggataacgt	gtttgatggc	ttggtaacgag	12660
ttactcaaaa	attccatatt	aaagtcaagc	atctgatgga	ctcactcatt	gattttctga	12720
acttccccag	attccagttt	ccggggaaac	ctgggatata	caactagggag	gaactttgca	12780
ctatgttcat	aagggaggta	gggacggtac	tgtcccaggt	atattcgaaa	gtccataatg	12840
gttcagaaat	actgtttttc	tatttccaag	acctagtgat	tacacttctt	ttcaggttaa	12900

ES 2 401 114 T3

```

ggaaacataa actaatagat gtaatctcga tgtatagggga actggtgaaa gatttatcaa 12960
aagaagccca agaggtatth aaagccattc agtctctcaa gaccacagag gtgctacgta 13020
atcttcagga ctttttacia ttcaatthtc aactaataga agataacatt aaacagctga 13080
aagagatgaa atthactttat cttattaatt atatccaaga tgagatcaac acaatcttca 13140
atgattatat cccatatgth tttaaattgt tgaaagaaaa cctatgcctt aatcttcata 13200
agttcaatga atthattcaa aacgagcttc aggaagcttc tcaagagtha cagcagatcc 13260
atcaatacat tatggccctt cgtgaagaat atthttgatcc aagatagth ggctggacag 13320
tgaaatatta tgaacttgaa gaaaagatag tcagthctgat caagaacctg thagthgctc 13380
ttaaggactt ccattctgaa tatattgtca gtgcctctaa cthtacttcc caactctcaa 13440
gtcaagthga gcaatthctg cacagaaata ttcaggaata tcttagcatc cttaccgatc 13500
cagatggaaa agggaaagag aagattgcag agctthctgc cactgctcag gaaataatta 13560
aaagccaggc cattgcgagc aagaaaaata tthctgatta ccaccagcag thtagatata 13620
aactgcaaga tthttcagac caactctctg attactatga aaaatthatt gctgaaatcca 13680
aaagattgat tgacctgtcc attcaaaact accacacatt tctgatatac atcacggagt 13740
tactgaaaaa gctgcaatca accacagtha tgaaccctca catgaagctt gctccaggag 13800
aactthactat catcctctaa tthtttaaaa gaaatcttca thtattcttc thttccaatt 13860
gaactthcac atagcacaga aaaaattcaa actgcctata thgataaaac catacagtha 13920
gccagccttg cagtaggcag tagactataa gcagaagcac atatgaactg gacctgcacc 13980
aaagctggca ccagggtctg gaaggtctct gaactcagaa ggatggcatt thttgcaagt 14040
taaagaaat caggatctga gttatthtg taaacttggg ggaggaggaa caaataaatg 14100
gagthcttht thgtgtatcat a 14121

```

<210> 2

<211> 20

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Oligonucleótido

<400> 2

gcctcagtct gcttcgacc 20

10 <210> 3

<211> 20

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Oligonucleótido

<400> 3

gcctcagtct gctttacacc 20

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un oligonucleótido con la secuencia de bases nucleicas GCCTCAGTCTGCTTCGCACC (SEQ ID NO:2) que inhibe la expresión de la apolipoproteína B, para uso en la reducción de los niveles de partículas pequeñas de LDL en un sujeto humano que muestra un nivel elevado de partículas pequeñas de LDL, en donde el nivel total de colesterol LDL en dicho sujeto no es elevado.
- 10 2. El oligonucleótido de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho oligonucleótido es un oligonucleótido quimérico con una longitud de 20 nucleótidos, compuesto por una región "interna" central que consiste en diez 2'-desoxinucleótidos, que está flanqueada en ambos lados (direcciones 5' y 3') por "alas" de cinco nucleótidos, compuestas de 2'-O-metoxietil nucleótidos, en donde los enlaces internucleósidos son de tipo fosforotioato a lo largo del oligonucleótido, y en donde todos los residuos de citidina son 5-metilcitidinas.

Figura 1

