



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116585308 A

(43) 申请公布日 2023. 08. 15

(21) 申请号 202310352367.9

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2019.05.24

A61K 31/4045 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61P 9/04 (2006.01)

62/676,788 2018.05.25 US

A61P 9/06 (2006.01)

62/839,531 2019.04.26 US

(62) 分案原申请数据

201980002822.4 2019.05.24

(71) 申请人 ARCA生物制药有限公司

地址 美国科罗拉多州

(72) 发明人 迈克尔·布里斯托

克里斯托弗·迪夫东

(74) 专利代理机构 北京柏杉松知识产权代理事

务所(普通合伙) 11413

专利代理师 回振海 王春伟

权利要求书2页 说明书150页 附图33页

(54) 发明名称

涉及布新洛尔治疗心房颤动的方法和组合物

(57) 摘要

当前的方法和组合物涉及在确定患者、包括具有心力衰竭的患者对于β<sub>1</sub>肾上腺素能受体基因中的Arg389是纯合的后,用布新洛尔治疗心房颤动。



1. 有效量的布新洛尔用于维持被诊断患有心力衰竭的患者的正常窦性心律的用途,所述患者(a)已被测试并被发现左心室射血分数为至少0.40;和(b)已被基因分型为对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

2. 根据权利要求1所述的用途,其中所述患者具有心房颤动的症状、处于心房颤动的风险、或已被诊断患有心房颤动。

3. 根据权利要求2所述的用途,其中所述患者具有心房颤动的症状。

4. 根据权利要求2所述的用途,其中所述患者处于心房颤动的风险。

5. 根据权利要求2所述的用途,其中所述患者已被诊断患有心房颤动。

6. 根据权利要求2所述的用途,其中所述心房颤动是新发性、复发性、持续性、永久性、或阵发性心房颤动。

7. 根据权利要求1所述的用途,其中所述患者已被测试并被发现左心室射血分数为0.45或高于0.45。

8. 根据权利要求7所述的用途,其中所述患者已被测试并被发现左心室射血分数为0.50至0.60。

9. 根据权利要求2所述的用途,其中所述患者已被测试并被发现左心室射血分数不大于0.55。

10. 根据权利要求7所述的用途,其中所述患者已被测试并被发现左心室射血分数不大于0.55。

11. 根据权利要求8所述的用途,其中所述患者已被测试并被发现左心室射血分数不大于0.55。

12. 根据权利要求1所述的用途,其中所述患者每天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。

13. 根据权利要求12所述的用途,其中所述患者被施用50mg或100mg剂量的布新洛尔。

14. 根据权利要求13所述的用途,其中所述患者每天被施用布新洛尔两次。

15. 根据权利要求2所述的用途,其中所述患者每天被施用0.15mg/kg至5mg/kg的布新洛尔。

16. 有效量的布新洛尔在制备用于治疗患者的心房颤动的药物中的用途,所述患者先前被诊断患有心力衰竭和心房颤动,且所述患者之后被测试具有大于或等于0.40且不大于0.55的左心室射血分数和所述患者被基因分型为对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

17. 根据权利要求16所述的用途,其中所述心房颤动是新发性、复发性、持续性、永久性、或阵发性心房颤动。

18. 根据权利要求16所述的用途,其中所述患者已被测试具有至少0.45的左心室射血分数。

19. 根据权利要求18所述的用途,其中所述患者已被测试具有至少0.50的左心室射血分数。

20. 根据权利要求19所述的用途,其中所述患者被施用50mg或100mg剂量的布新洛尔。

21. 根据权利要求20所述的用途,其中所述患者每天被施用布新洛尔两次。

22. 根据权利要求16所述的用途,其中所述患者每天被施用0.15mg/kg至5mg/kg的布新洛尔。

23. 12.5mg至200mg的布新洛尔在制备用于减少被诊断患有心力衰竭的患者的心房颤动负担的药物中的用途,所述患者(a)已被测试并被发现左心室射血分数为至少0.40;和(b)已被基因分型为对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

24. 根据权利要求23所述的用途,其中所述患者具有心房颤动的症状、处于心房颤动的风险、或已被诊断患有心房颤动。

25. 根据权利要求24所述的用途,其中所述心房颤动是新发性、复发性、持续性、永久性、或阵发性心房颤动。

26. 12.5mg至200mg的布新洛尔在制备用于治疗心力衰竭患者的心房颤动的药物中的用途,所述患者先前被诊断患有心力衰竭和心房颤动,且所述患者(a)已被测试并被发现左心室射血分数为0.50至0.55;和(b)已被基因分型为对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

27. 根据权利要求26所述的用途,其中所述心房颤动是新发性、复发性、持续性、永久性、或阵发性心房颤动。

28. 根据权利要求26所述的用途,其中所述患者每天两次接受50mg或100mg的布新洛尔。

## 涉及布新洛尔治疗心房颤动的方法和组合物

[0001] 本申请是申请日为2019年5月24日、申请号为201980002822.4、发明名称为“涉及布新洛尔治疗心房颤动的方法和组合物”的中国专利申请的分案申请。

### 技术领域

[0002] 本公开一般地涉及分子生物学和医学领域。特别地,其关于涉及通过 $\beta$ -阻滞剂/血管扩张剂治疗或预防心律失常的方法和组合物。更具体地,本发明涉及用于治疗 and 预防心脏病症,包括心力衰竭中的心房颤动(AF)的涉及布新洛尔的方法和组合物。

### 背景技术

[0003] 心房颤动(AF)是一种常见且严重的医学问题,其与高发病率和死亡率相关,尤其是对于具有心力衰竭(HF)的患者(89)。AF的发展与心血管不良后果的风险增加相关,当HF患者发生AF时,这些不良反应会加剧(90、2)。AF和HF通常并存并具有共同的危险因素,并且病理生理学重叠(2)。因此,存在最大程度地减少HF患者中AF的发生的强有力的理由。抗心律失常药物可以减轻AF负担,但具有许多副作用,包括致心律失常,并且HF患者禁用许多药物(89)。尽管导管消融显示出有望在射血分数(HFrEF)降低的HF患者中预防复发性AF(91、92),但它对许多患者可能并不适合或不实用。因此,对于减轻HF患者的AF的安全有效的药物存在未满足的需求。 $\beta$ -阻滞剂由于具有降低发病率和死亡率的益处而成为HFrEF的一线治疗药物,其广泛用于HF患者的AF以控制心室反应率。此外, $\beta$ 阻滞剂在HFrEF患者中具有适度的AF预防作用(11)。

[0004] 尽管AF使卒中风险增加到超过HFrEF的已经增加的风险,但是由于可以通过口服抗凝药来缓解这种风险,HFrEF中死亡的 $<5\%$ 是卒中(5),HF中新发性AF导致的主要的发病率和死亡率的增加风险是主要关注的问题,这进一步增加了死亡和住院治疗的风险(2、3)。AF与HF类似,但与其他心血管障碍不同,它的患病率正在增加,预计到2030年在美国将从目前的610万人增加至1200万人(1)。

[0005] 心力衰竭中AF的预防和治疗是未满足的主要需求(5)。在美国,药物治疗限于3类抗心律失常药物胺碘酮和多非利特,而胺碘酮未被批准用于这种适应症。此外,胺碘酮具有多种毒性,另外还具有致心律失常的作用,并可能增加HFrEF的死亡率(6、7)。<sup>7</sup>尽管通过住院监测治疗过程中的QT间隔可以减轻多非利特的致心律失常(8),这是多非利特的使用要求(9),但并不排除药物诱发的尖端扭转型室性心动过速(10)。

[0006] 布新洛尔是一种非选择性 $\beta$ 阻滞剂,具有轻度的血管扩张剂特性和两个独特的抗肾上腺素能特性;对ADRB1 Arg389主要等位基因的基因产物具有适度的交感神经阻滞作用(22)和反向激动作用(17),该性质促进组成型活性 $\beta$ 1-肾上腺素能受体的失活。对于ADRB1 Arg389(ADRB1 Arg389Arg)是纯合的患者,布新洛尔的治疗效果似乎增强(17、19)。在具有该基因型的晚期HFrEF患者中,与安慰剂相比,基线时处于窦性心律的患者接受布新洛尔的AF发生率降低了74%(13)。美托洛尔和卡维地洛在具有ADRB1 Arg389Arg基因型的患者中似乎没有赋予相似的临床益处(26、25)。



[0007] 需要用于治疗心力衰竭患者,包括HF<sub>r</sub>EF患者和具有中等范围或更高左心室射血分数(即,左心室射血分数(LVEF)为0.40或高于0.40)的心力衰竭患者的AF和其他心脏病的改进的方法和组合物。没有发现β阻滞剂对具有中等范围或更高LVEF的心力衰竭患者有效,目前尚无批准的降低这些患者的死亡率、发病率或住院率的疗法(5、33、106、107、108、109、110)。实际上,Butler等人指出“保留射血分数(HF<sub>p</sub>EF)的心力衰竭负担预计会加重。迄今为止,还没有可用于降低这些患者的死亡率或住院率的批准疗法”(106)。Butler等人还指出“已经建立了针对HF<sub>p</sub>EF的非特异性治疗,并且限于利尿剂的管理和合并症的治疗”,并且“β阻滞剂尚未显示出对HF<sub>p</sub>EF的益处”(106)。同样,Kotecha等人指出“与没有这些诊断结果的患者相比,具有保留射血分数(HF<sub>p</sub>EF)和心房颤动(AF)的心力衰竭是患病率增加的常见病症,并且与发病率和死亡率增加有关。HF<sub>p</sub>EF与心力衰竭一样常见,其射血分数(H<sub>r</sub>EF)降低,患者会出现类似的症状,但缺乏疗效可靠的治疗选择”(108)。

### 发明内容

[0008] 发明人发现了满足上述需求的治疗方法。本文描述了通过识别可以用布新洛尔实现治疗结果的患者,包括布新洛尔的特定剂量方案,向具有心力衰竭、心房颤动、其他心律失常和其他心血管病症和疾病的患者提供治疗益处的方法。

[0009] 另外,本文公开的方法基于出人意料的发现,即布新洛尔在具有中等范围和更高LVEF的患者中可有效治疗和预防包括心房颤动的心脏病。发明人还出人意料地发现,布新洛尔在相对近期(例如,在约12年之内)并且在时间上彼此接近(例如,在彼此2年之内)的最初被诊断患有心力衰竭和心律失常的患者中具有增强的功效。因此,本文公开的方法满足了心脏病治疗中未满足的重大需求。

[0010] 提供了作为涉及布新洛尔的方法和用途的实施方案。方法和用途包括可以实现用于治疗心房颤动、心力衰竭、具有心房颤动的心力衰竭、射血分数降低的心力衰竭、具有中等范围射血分数的心力衰竭、具有保留射血分数的心力衰竭、心房扑动、心室心动过速、心室颤动、慢性心力衰竭、心律失常、扩张型心肌病、缺血性心脏病、高血压、缺血性心脏病、心绞痛和/或心肌梗塞,用于识别用布新洛尔治疗的患者,确定患者的布新洛尔剂量,用于用布新洛尔治疗患者,用于最大化布新洛尔治疗,用于识别用布新洛尔治疗的患者,用于将患者排除在使用布新洛尔的治疗外和/或降低布新洛尔副作用的风险的那些。

[0011] 方法和用途涉及以下步骤中的一个或多个:向患者施用包含布新洛尔的组合物,有效量的包含布新洛尔的组合物或具有2mg至20mg布新洛尔的组合物;对来自患者的样品进行测定,以确定患者是否具有一个或多个CYP2D6多态性,确定该患者是否为布新洛尔的弱代谢者,确定该患者是否为布新洛尔的中等代谢者,确定该患者是否为布新洛尔的强代谢者,和/或确定患者是否为布新洛尔的超快代谢者;测量LVEF;确定患者何时出现心房颤动;确定患者何时出现心力衰竭;或确定相对于出现心力衰竭,患者何时出现心房颤动(反之亦然)。

[0012] 本文公开的实施方案中的患者包括人类患者,具有一种或多种心力衰竭症状的患者,具有一种或多种心房颤动症状的患者,具有一种或多种心律失常症状的患者,被诊断为心力衰竭的患者,被诊断为心房颤动的患者,被诊断为心律失常的患者,确定具有中度或轻度心力衰竭的患者,具有HF<sub>f</sub>EF的患者,测量了LVEF的患者,对于CYP2D6等

位基因中的一个或多个多态性基因分型的患者,检测CYP2D6活性的患者,属于布新洛尔的弱代谢者、中等代谢者、强代谢者和/或超快代谢者的患者,对于CYP2D6中的一种或多于一种多态性测试的患者,测试确定为对于 $\beta_1$ AR基因中Arg389是纯合的患者,和/或具有特定左心室射血分数(LVEF)特征的患者。在特定的实施方案中,患者的LVEF(舍入的)可为约、至少约或至多约0.10、0.11、0.12、0.13、0.14、0.15、0.16、0.17、0.18、0.19、0.20、0.21、0.22、0.23、0.24、0.25、0.26、0.27、0.28、0.29、0.30、0.31、0.32、0.33、0.34、0.35、0.36、0.37、0.38、0.39、0.40、0.41、0.42、0.43、0.44、0.45、0.46、0.47、0.48、0.49、0.50或大于0.50(或其中可获得的任何范围),其中在施用布新洛尔的1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天,和/或1周、2周、3周、4周之内测量LVEF。在特定的实施方案中,患者的LVEF降低,其中LVEF为0.40或低于0.40或为0.41至0.49。预期在处方和/或施用布新洛尔之前已测量和/或考虑了患者的LVEF后才施用布新洛尔。在一些实施方案中,在出现心力衰竭之前,患者出现心房颤动少于60天、59天、58天、57天、56天、55天、54天、53天、52天、51天、50天、49天、48天、47天、46天、45天、44天、43天、42天、41天、40天、39天、38天、37天、36天、35天、34天、33天、32天、31天、30天、29天、28天、27天、26天、25天、24天、23天、22天、21天、20天、19天、18天、17天、16天、15天、14天、13天、12天、11天、10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天、2天、或1天(或其中可获得的任何范围)。在某些实施方案中,患者在出现心力衰竭之前未出现心房颤动。在其他实施方案中,患者在出现心力衰竭之前不超过29天出现心房颤动。在一些实施方案中,测量患者的LVEF(舍入的)为约、至少约或至多约0.10、0.11、0.12、0.13、0.14、0.15、0.16、0.17、0.18、0.19、0.20、0.21、0.22、0.23、0.24、0.25、0.26、0.27、0.28、0.29、0.30、0.31、0.32、0.33、0.34、0.35、0.36、0.37、0.38、0.39、0.40、0.41、0.42、0.43、0.44、0.45、0.46、0.47、0.48、0.49、0.50或大于0.50(或其中可获得的任何范围),其中在施用布新洛尔的1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天和/或1周、2周、3周、4周之内测量LVEF,并且患者在出现心力衰竭之前出现心房颤动少于60天、59天、58天、57天、56天、55天、54天、53天、52天、51天、50天、49天、48天、47天、46天、45天、44天、43天、42天、41天、40天、39天、38天、37天、36天、35天、34天、33天、32天、31天、30天、29天、28天、27天、26天、25天、24天、23天、22天、21天、20天、19天、18天、17天、16天、15天、14天、13天、12天、11天、10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天、2天、或1天(或其中可获得的任何范围)。

[0013] 在特定情况下,患者具有心力衰竭的症状或已被诊断出心力衰竭。心力衰竭可以被认为是晚期心力衰竭,尽管在一些实施方案中,方法排除了患有晚期心力衰竭的患者。术语“晚期心力衰竭”是根据其在心脏病学领域中的普通含义使用的。在一些实施方案中,根据NYHA分类系统,被处方布新洛尔的患者可能患有或可以排除III类或IV类心力衰竭。可以通过另一个这样的系统对患者进行分类。还预期可以通过不同的方法对患者进行分类,但是可以类似地实施实施方案。在其他实施方案中,患者可能具有心力衰竭的体征或症状,但没有晚期心力衰竭。在这种情况下,根据NYHA分类系统,患者可能已经或可能被确定为I类或II类心力衰竭患者。

[0014] 在某些实施方案中,存在用布新洛尔治疗对于在一个或两个CYP2D6等位基因中的至少一种多态性已被基因分型或检测的患者的方法。在一些实施方案中,除了对一个或两个CYP2D6等位基因进行基因分型或检测之外,在CYP2D6复制品基因中对至少一种多态性进行基因分型或检测。在进一步的实施方案中,对于一个或两个CYP2D6等位基因中,以及任选

地在CYP2D6复制品基因中的1种、2种、3种、4种、5种、6种、7种、8种、9种、10种、11种、12种、13种、14种、15种、16种、17种、18种、19种、20种、21种、22种、23种、24种、25种、26种、27种、28种、29种、30种、31种、32种、33种、34种、35种、36种、37种、38种、39种、40种或多于40种的多态性(或其中可获得的任何范围),将患者基因分型或检测。在特定的实施方案中,已对CYP2D6多态性进行基因分型或检测的患者已对于至少是或至多是以以下CYP2D6基因型中的1种、2种、3种、4种、5种、6种、7种、8种、9种、10种、11种、12种、13种、14种、15种或16种:\*1、\*2、\*3、\*4、\*5、\*6、\*7、\*8、\*9、\*10、\*11、\*15、\*17、\*29、\*35、或\*41进行检测或基因分型。在某些实施方案中,对于所有以下CYP2D6基因型已将患者基因分型:\*1、\*2、\*3、\*4、\*5、\*6、\*7、\*8、\*9、\*10、\*11、\*15、\*17、\*29、\*35、或\*41。在其他实施方案中,在患者中对另外的CYP2D6多态性进行基因分型或检测。

[0015] 在某些实施方案中,CYP2D6基因分型将患者确定为布新洛尔的弱代谢者、弱/中等代谢者、中等/强代谢者、强代谢者、强/超快代谢者或超快代谢者。在特定的实施方案中,在2小时、4小时、6小时、8小时、10小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、84小时、96小时、108小时和/或1天、2天、3天、4天、5天、6天或7天(或其中可获得的任何范围)内向这样的患者或任何患者施用至少或至多约1mg、1.5mg、2mg、2.5mg、3mg、3.5mg、4mg、4.5mg、5mg、5.5mg、6mg、6.5mg、7mg、7.5mg、8mg、8.5mg、9mg、9.5mg、10mg、10.5mg、11mg、11.5mg、12mg、12.5mg、13mg、13.5mg、14mg、14.5mg、15mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg、55mg、60mg、65mg、70mg、75mg、80mg、85mg、90mg、95mg、100mg、105mg、110mg、115mg、120mg、125mg、130mg、135mg、140mg、145mg、150mg、155mg、160mg、165mg、170mg、175mg、180mg、185mg、190mg、195mg、200mg、205mg、210mg、215mg、220mg、225mg、230mg、235mg、240mg、245mg、250mg、255mg、260mg、265mg、270mg、275mg、280mg、285mg、290mg、295mg、或300mg的布新洛尔(或其中可获得的任何范围)。向患者施用含有约1mg、1.5mg、2mg、2.5mg、3mg、3.5mg、4mg、4.5mg、5mg、5.5mg、6mg、6.5mg、7mg、7.5mg、8mg、8.5mg、9mg、9.5mg、10mg、10.5mg、11mg、11.5mg、12mg、12.5mg、13mg、13.5mg、14mg、14.5mg、15mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg、55mg、60mg、65mg、70mg、75mg、80mg、85mg、90mg、95mg、100mg、105mg、110mg、115mg、120mg、125mg、130mg、135mg、140mg、145mg、150mg、155mg、160mg、165mg、170mg、175mg、180mg、185mg、190mg、195mg、200mg、205mg、210mg、215mg、220mg、225mg、230mg、235mg、240mg、245mg、250mg、255mg、260mg、265mg、270mg、275mg、280mg、285mg、290mg、295mg或300mg的布新洛尔(或其中可获得的任何范围)的组合物。组合物可被施用1次、2次、3次、4次、5次、6次、7次、8次、9次、10次、11次、12次、13次、14次、15次、16次、17次、18次、19次、20次或多于20次;其可以每1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、13小时、14小时、15小时、16小时、17小时、18小时、19小时、20小时、21小时、22小时、23小时、24小时施用,持续1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天或1周、2周、3周、4周、5周,或1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月或多于12个月(或其中可获得的任何范围)。在其他实施方案中,向这样的患者或任何患者施用至少或至多约0.01mg/kg/天、0.02mg/kg/天、0.03mg/kg/天、0.04mg/kg/天、0.05mg/kg/天、0.06mg/kg/天、0.07mg/kg/天、0.08mg/kg/天、0.09mg/kg/天、0.1mg/kg/天、0.2mg/kg/天、0.3mg/kg/天、0.4mg/kg/天、0.5mg/kg/天、0.6mg/kg/天、0.7mg/kg/天、0.8mg/kg/天、0.9mg/kg/天、1.0mg/kg/天、1.1mg/kg/天、

1.2mg/kg/天、1.3mg/kg/天、1.4mg/kg/天、1.5mg/kg/天、1.6mg/kg/天、1.7mg/kg/天、1.8mg/kg/天、1.9mg/kg/天、2.0mg/kg/天、2.1mg/kg/天、2.2mg/kg/天、2.3mg/kg/天、2.4mg/kg/天、2.5mg/kg/天、2.6mg/kg/天、2.7mg/kg/天、2.8mg/kg/天、2.9mg/kg/天、3.0mg/kg/天、3.1mg/kg/天、3.2mg/kg/天、3.3mg/kg/天、3.4mg/kg/天、3.5mg/kg/天、3.6mg/kg/天、3.7mg/kg/天、3.8mg/kg/天、3.9mg/kg/天、4.0mg/kg/天、4.1mg/kg/天、4.2mg/kg/天、4.3mg/kg/天、4.4mg/kg/天、4.5mg/kg/天、4.6mg/kg/天、4.7mg/kg/天、4.8mg/kg/天、4.9mg/kg/天、5.0mg/kg/天、5.1mg/kg/天、5.2mg/kg/天、5.3mg/kg/天、5.4mg/kg/天、5.5mg/kg/天、5.6mg/kg/天、5.7mg/kg/天、5.8mg/kg/天、5.9mg/kg/天、6.0mg/kg/天、6.1mg/kg/天、6.2mg/kg/天、6.3mg/kg/天、6.4mg/kg/天、6.5mg/kg/天、6.6mg/kg/天、6.7mg/kg/天、6.8mg/kg/天、6.9mg/kg/天、7.0mg/kg/天、7.1mg/kg/天、7.2mg/kg/天、7.3mg/kg/天、7.4mg/kg/天、7.5mg/kg/天、7.6mg/kg/天、7.7mg/kg/天、7.8mg/kg/天、7.9mg/kg/天、8.0mg/kg/天、8.1mg/kg/天、8.2mg/kg/天、8.3mg/kg/天、8.4mg/kg/天、8.5mg/kg/天、8.6mg/kg/天、8.7mg/kg/天、8.8mg/kg/天、8.9mg/kg/天、9.0mg/kg/天、9.1mg/kg/天、9.2mg/kg/天、9.3mg/kg/天、9.4mg/kg/天、9.5mg/kg/天、9.6mg/kg/天、9.7mg/kg/天、9.8mg/kg/天、9.9mg/kg/天、或10mg/kg/天(或其中可获得的任何范围)的布新洛尔。

[0016] 在某些实施方案中,基于CYP2D6基因分型将患者确定为超快、强或中等代谢者(或其组合)。可以向这样的患者施用本文所述的任何剂量的布新洛尔。在一些实施方案中,每天向这类患者施用12.5mg至200mg的布新洛尔。或者,向这类患者施用0.15mg/kg/天至2.5mg/kg/天。

[0017] 在一些实施方案中,基于CYP2D6基因分型,确定患者为中等代谢者;与超快代谢者和/或强代谢者相比,向此类患者施用的布新洛尔剂量可能更少。

[0018] 在另外的实施方案中,基于CYP2D6多态性或基因型确定患者为弱代谢者。在一些实施方案中,向患者施用的剂量少于向基于CYP2D6基因分型被确定为超快、强和/或中等代谢者(或其组合)的患者施用的剂量。与超快和/或强代谢者或中等代谢者相比,向此类患者施用的布新洛尔的量可能更少。

[0019] 在某些实施方案中,已经将患者基因分型为在一个或两个CYP2D6等位基因中不具有至少以下任何CYP2D6基因型:\*2、\*3、\*4、\*5、\*6、\*7、\*8、\*9、\*10、\*11、\*15、\*17、\*29、\*35、和\*41。

[0020] 在特定的实施方案中,对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*1,已经将患者基因分型。在一些实施方案中,对于CYP2D6重复基因的基因型\*1,已经将患者基因分型。在进一步的实施方案中,基于一个或两个CYP2D6等位基因和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*1,将患者确定为强代谢者和/或超快代谢者。在特定的实施方案中,向在一个或两个CYP2D6等位基因中或在CYP2D6重复基因中具有\*1基因型的患者每天施用12.5mg至200mg的布新洛尔和/或0.15mg/kg/天至2.5mg/kg/天,或本文所述的任何其他剂量。

[0021] 在特定的实施方案中,对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*2,已经将患者基因分型。在一些实施方案中,对于CYP2D6重复基因的基因型\*2,已经将患者基因分型。在进一步的实施方案中,基于一个或两个CYP2D6等位基因和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*2,将患者确定为强代谢者和/或超快代谢者。在特定的实施方案中,向在一个或两个CYP2D6等

位基因中或在CYP2D6重复基因中具有\*2基因型的患者每天施用12.5mg至200mg的布新洛尔和/或0.15mg/kg/天至2.5mg/kg/天,或本文所述的任何其他剂量。

[0022] 在特定的实施方案中,对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*35,已经将患者基因分型。在一些实施方案中,对于CYP2D6重复基因的基因型\*35,已经将患者基因分型。在进一步的实施方案中,基于一个或两个CYP2D6等位基因和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*35,将患者确定为强代谢者和/或超快代谢者。在特定的实施方案中,向在一个或两个CYP2D6等位基因中或在CYP2D6重复基因中具有\*35基因型的患者每天施用12.5mg至200mg的布新洛尔和/或0.15mg/kg/天至2.5mg/kg/天,或本文所述的任何其他剂量。

[0023] 在特定的实施方案中,对于CYP2D6的一个或两个等位基因基中的\*9,已经将患者基因分型。在一些实施方案中,对于CYP2D6重复基因的基因型\*9,已经将患者基因分型。在进一步的实施方案中,基于一个或两个CYP2D6等位基因和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*9,将患者确定为中等代谢者和/或强代谢者。在特定的实施方案中,向在一个或两个CYP2D6等位基因中或在CYP2D6重复基因中具有\*9基因型的患者每天施用12.5mg至200mg的布新洛尔和/或0.15mg/kg/天至2.5mg/kg/天,或本文所述的任何其他剂量。

[0024] 在特定的实施方案中,对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*10,已经将患者基因分型。在一些实施方案中,对于CYP2D6重复基因的基因型\*10,已经将患者基因分型。在进一步的实施方案中,基于一个或两个CYP2D6等位基因和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*10,将患者确定为中等代谢者和/或强代谢者。在特定的实施方案中,向在一个或两个CYP2D6等位基因中或在CYP2D6重复基因中具有\*10基因型的患者每天施用12.5mg至200mg的布新洛尔和/或0.15mg/kg/天至2.5mg/kg/天,或本文所述的任何其他剂量。

[0025] 在特定的实施方案中,对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*17,已经将患者基因分型。在一些实施方案中,对于CYP2D6重复基因的基因型\*17,已经将患者基因分型。在进一步的实施方案中,基于一个或两个CYP2D6等位基因和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*17,将患者确定为中等代谢者和/或强代谢者。在特定的实施方案中,向在一个或两个CYP2D6等位基因中或在CYP2D6重复基因中具有\*17基因型的患者每天施用12.5mg至200mg的布新洛尔和/或0.15mg/kg/天至2.5mg/kg/天,或本文所述的任何其他剂量。

[0026] 在特定的实施方案中,对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*29,已经将患者基因分型。在一些实施方案中,对于CYP2D6重复基因的基因型\*29,已经将患者基因分型。在进一步的实施方案中,基于一个或两个CYP2D6等位基因和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*29,将患者确定为中等代谢者和/或强代谢者。在特定的实施方案中,向在一个或两个CYP2D6等位基因中或在CYP2D6重复基因中具有\*29基因型的患者每天施用12.5mg至200mg的布新洛尔和/或0.15mg/kg/天至2.5mg/kg/天,或本文所述的任何其他剂量。

[0027] 在特定的实施方案中,对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*41,已经将患者基因分型。在一些实施方案中,对于CYP2D6重复基因的基因型\*41,已经将患者基因分型。在进一步的实施方案中,基于一个或两个CYP2D6等位基因和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*41,将患者确定为中等代谢者和/或强代谢者。在特定的实施方案中,向在一个或两个CYP2D6等位基因中或在CYP2D6重复基因中具有\*41基因型的患者每天施用12.5mg至200mg的布新洛尔和/或0.15mg/kg/天至2.5mg/kg/天,或本文所述的任何其他剂量。

[0028] 在特定的实施方案中,对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*3,已经将患者基

因分型。在一些实施方案中,对于CYP2D6重复基因的基因型\*3,已经将患者基因分型。在进一步的实施方案中,基于一个或两个CYP2D6等位基因和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*3,将患者确定为中等代谢者和/或弱代谢者。在特定的实施方案中,向在一个或两个CYP2D6等位基因中或在CYP2D6重复基因中具有\*3基因型的患者每天施用12.5mg至200mg的布新洛尔和/或0.15mg/kg/天至2.5mg/kg/天,或本文所述的任何其他剂量。

[0029] 在特定的实施方案中,对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*4,已经将患者基因分型。在一些实施方案中,对于CYP2D6重复基因的基因型\*4,已经将患者基因分型。在进一步的实施方案中,基于一个或两个CYP2D6等位基因和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*4,将患者确定为中等代谢者和/或弱代谢者。在特定的实施方案中,向在一个或两个CYP2D6等位基因中或在CYP2D6重复基因中具有\*4基因型的患者每天施用12.5mg至200mg的布新洛尔和/或0.15mg/kg/天至2.5mg/kg/天,或本文所述的任何其他剂量。

[0030] 在特定的实施方案中,对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*5,已经将患者基因分型。在一些实施方案中,对于CYP2D6重复基因的基因型\*5,已经将患者基因分型。在进一步的实施方案中,基于一个或两个CYP2D6等位基因和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*5,将患者确定为中等代谢者和/或弱代谢者。在特定的实施方案中,向在一个或两个CYP2D6等位基因中或在CYP2D6重复基因中具有\*5基因型的患者每天施用12.5mg至200mg的布新洛尔和/或0.15mg/kg/天至2.5mg/kg/天,或本文所述的任何其他剂量。

[0031] 在特定的实施方案中,对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*6,已经将患者基因分型。在一些实施方案中,对于CYP2D6重复基因的基因型\*6,已经将患者基因分型。在进一步的实施方案中,基于一个或两个CYP2D6等位基因和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*6,将患者确定为中等代谢者和/或弱代谢者。在特定的实施方案中,向在一个或两个CYP2D6等位基因中或在CYP2D6重复基因中具有\*6基因型的患者每天施用12.5mg至200mg的布新洛尔和/或0.15mg/kg/天至2.5mg/kg/天,或本文所述的任何其他剂量。

[0032] 在特定的实施方案中,对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*7,已经将患者基因分型。在一些实施方案中,对于CYP2D6重复基因的基因型\*7,已经将患者基因分型。在进一步的实施方案中,基于一个或两个CYP2D6等位基因和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*7,将患者确定为中等代谢者和/或弱代谢者。在特定的实施方案中,向在一个或两个CYP2D6等位基因中或在CYP2D6重复基因中具有\*7基因型的患者每天施用12.5mg至200mg的布新洛尔和/或0.15mg/kg/天至2.5mg/kg/天,或本文所述的任何其他剂量。

[0033] 在特定的实施方案中,对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*8,已经将患者基因分型。在一些实施方案中,对于CYP2D6重复基因的基因型\*8,已经将患者基因分型。在进一步的实施方案中,基于一个或两个CYP2D6等位基因和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*8,将患者确定为中等代谢者和/或弱代谢者。在特定的实施方案中,向在一个或两个CYP2D6等位基因中或在CYP2D6重复基因中具有\*8基因型的患者每天施用12.5mg至200mg的布新洛尔和/或0.15mg/kg/天至2.5mg/kg/天,或本文所述的任何其他剂量。

[0034] 在特定的实施方案中,对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*11,已经将患者基因分型。在一些实施方案中,对于CYP2D6重复基因的基因型\*11,已经将患者基因分型。在进一步的实施方案中,基于一个或两个CYP2D6等位基因和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*11,将患者确定为中等代谢者和/或弱代谢者。在特定的实施方案中,向在一个或两个

CYP2D6等位基因中或在CYP2D6重复基因中具有\*11基因型的患者每天施用12.5mg至200mg的布新洛尔和/或0.15mg/kg/天至2.5mg/kg/天,或本文所述的任何其他剂量。

[0035] 在特定的实施方案中,对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*15,已经将患者基因分型。在一些实施方案中,对于CYP2D6重复基因的基因型\*15,已经将患者基因分型。在进一步的实施方案中,基于一个或两个CYP2D6等位基因和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*15,将患者确定为中等代谢者和/或弱代谢者。在特定的实施方案中,向在一个或两个CYP2D6等位基因中或在CYP2D6重复基因中具有\*15基因型的患者每天施用12.5mg至200mg的布新洛尔和/或0.15mg/kg/天至2.5mg/kg/天,或本文所述的任何其他剂量。

[0036] 本文提供的表格显示了哪些基因型与哪些代谢水平相关联,这取决于具有该基因型的等位基因的数量以及是否存在重复的等位基因。具有正常活性的CYP2D6基因型是:\*1、\*2和\*35。具有降低的活性的CYP2D6基因型是:\*9、\*10、\*17、\*29、\*41。具有非功能活性的CYP2D6基因型是:\*3、\*4、\*5、\*6、\*7、\*8、\*11、\*15。在强代谢者中观察到两个正常的等位基因。在中等代谢者中观察到两个降低的等位基因。在弱代谢者中观察到两个非功能性等位基因。两个正常的等位基因加上重复的正常等位基因是超快代谢者。一个正常的等位基因和降低的等位基因加上重复的正常等位基因或重复的降低的等位基因是强代谢者。一个正常的等位基因和非功能性等位基因加上重复的正常等位基因或重复的非功能性等位基因是强代谢者。两个降低的等位基因加上重复的降低的等位基因是中等-强代谢者。一个降低的等位基因和一个非功能性等位基因加上重复的等位基因是中等代谢者。两个非功能性等位基因加上重复的非功能性等位基因是弱代谢者。

[0037] 特别地考虑到,本文所述的基因型\*中的任何单个多态性可以与该基因型分开地进行检测或基因分型。可以对基因型\*2中任何1个、2个、3个和/或4个多态性(-1584>G,1661G>C,2850C>T,4180G>C)进行分析或基因分型。可以对基因型\*3(2549A>缺失)的多态性进行分析或基因分型。可以对基因型\*4中任何1个、2个、3个、4个和/或5个多态性(100C>T,1661G>C,1846G>A,4180G>C,2850C>T)进行分析或基因分型。可以对基因型\*5(缺失)的多态性进行分析或基因分型。可以对基因型\*6(1707T>缺失,4180G>C)中的一个或两个多态性进行基因分型或分析。可以对基因型\*7(2935A>C)的多态性进行分析或基因分型。可以对基因型\*8中任何1个、2个、3个和/或4个多态性(1661G>C,1758G>T,2850C>T,4180G>C)进行分析或基因分型。可以对基因型\*9(2613缺失AGA)的多态性进行分析或基因分型。可以对基因型\*1010中任何1个、2个和/或3个多态性(100C>T,1661G>C,4180G>C)进行分析或基因分型。可以对基因型\*11中任何1个、2个、3个和/或4个多态性(883G>C,1661G>C,2850C>T,4180G>C)进行基因分型或分析。可以对基因型\*15(138插入T)的多态性进行基因分型或分析。可以对基因型\*17中任何1个、2个、3个和/或4个多态性(1023C>T,1661G>C,2850C>T,4180G>C)进行分析或基因分型。可以对基因型\*29中任何1个、2个、3个、4个和/或5个多态性(1659G>A,1661G>C,2850C>T,3183G>A,4180G>C)进行分析或基因分型。可以对基因型\*35中任何1个、2个、3个、4个和/或5个多态性(-1584C>G,31G>A,1661G>C,2850C>T,4180G>C)进行分析或基因分型。可以对基因型\*41中任何1个、2个、3个和/或4个多态性(1661G>C,2850C>T,2988G>A,4180G>C)进行基因分型或分析。

[0038] 在某些实施方案中,还评估患者 $\beta_1$ AR基因中的一种或多于一种多态性。在特定的实施方案中,患者是纯合的Arg389,这意味着患者的两个 $\beta_1$ AR等位基因的核苷酸编码序列

中的位置1165处的胞嘧啶是纯合的。

[0039] 基因分型是确定其序列的核酸的物理和/或化学改变。在某些实施方案中,基因分型包括测序、核酸扩增、杂交和/或转录或其组合。

[0040] 在某些实施方案中,组合物是S-布新洛尔和R-布新洛尔的外消旋混合物。在其他实施方案中,组合物基本上包含比另一种对映体更多的一种对映体。在具体的实施方案中,组合物包含S-布新洛尔与R-布新洛尔的重量比为至少99:1的布新洛尔。

[0041] 在某些实施方案中,存在用于用布新洛尔治疗心力衰竭中的心房颤动的方法,该方法包括向患者施用包含布新洛尔的组合物,其中在施用包含布新洛尔的组合物之前,对于至少一个等位基因中的至少一种CYP2D6多态性,已经将所述患者基因分型,其中还对所述患者进行了测试,并确定其对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。在另外的实施方案中,存在用于确定用于在患者中治疗心力衰竭伴心房颤动的布新洛尔剂量的方法,所述方法包括在对于CYP2D6基因的一个或两个等位基因,以及任选地在重复的CYP2D6基因中的一种或多种多态性将患者基因分型后,向所述患者施用包含布新洛尔的组合物,其中所述患者还经过测试,并确定为对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0042] 在另外的实施方案中,存在布新洛尔在对于CYP2D6中的一种或多种多态性基因分型的患者中治疗心力衰竭伴心房颤动的用途,并且其中已经确定所述患者对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0043] 本公开还提供了关于心力衰竭和心房颤动之间相互作用的信息。在一些实施方案中,存在用于治疗患有心房颤动和/或心力衰竭或在心力衰竭中心房颤动的患者的方法,其包括在测量LVEF $<0.40$ 后向患者施用有效量的包含布新洛尔的组合物,或在测量LVEF $\geq 0.40$ ,但在患者出现心力衰竭前确定出现心房颤动不超过29天后向患者施用有效量的包含布新洛尔的组合物。或者,方法可以包括治疗患有心房颤动和/或心力衰竭或心力衰竭中心房颤动的患者,其包括在测量LVEF $<0.40$ 后向患者施用有效量的包含布新洛尔的组合物,或在测量LVEF $\geq 0.40$ ,但在患者被诊断为心力衰竭之前不超过29天被诊断为心房颤动后向患者施用有效量的包含布新洛尔的组合物。

[0044] 在一些实施方案中,测量患者的LVEF(舍入的)为约、至少约或至多约0.10、0.11、0.12、0.13、0.14、0.15、0.16、0.17、0.18、0.19、0.20、0.21、0.22、0.23、0.24、0.25、0.26、0.27、0.28、0.29、0.30、0.31、0.32、0.33、0.34、0.35、0.36、0.37、0.38、0.39、0.40、0.41、0.42、0.43、0.44、0.45、0.46、0.47、0.48、0.49、0.50或大于0.50(或其中可获得的任何范围),其中在施用布新洛尔后的1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天,和/或1周、2周、3周、4周之内测量LVEF,并且在出现或被诊断出心力衰竭之前患者出现或被诊断出心房颤动少于60天、59天、58天、57天、56天、55天、54天、53天、52天、51天、50天、49天、48天、47天、46天、45天、44天、43天、42天、41天、40天、39天、38天、37天、36天、35天、34天、33天、32天、31天、30天、29天、28天、27天、26天、25天、24天、23天、22天、21天、20天、19天、18天、17天、16天、15天、14天、13天、12天、11天、10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天、2天、或1天(或其中可获得的任何范围)。

[0045] 心力衰竭的表现可包括或包括以下体征或症状中的至少1种、至少2种、至少3种、至少4种、至少5种或至少6种:呼吸急促、劳累性呼吸困难、端坐呼吸、阵发性夜间呼吸困难、休息时呼吸困难或急性肺水肿。心力衰竭可能还有其他心脏症状,例如胸痛/压迫感和心



悸。常见的心力衰竭的非心脏体征和症状包括厌食、恶心、体重减轻、腹胀、疲劳、虚弱、少尿、夜尿症以及从焦虑到记忆力减退和意识模糊的严重程度不等的脑部症状。Framingham心脏研究的发现支持的观点是亚临床心脏功能障碍和非心脏合并症与心力衰竭的发生率增加相关,支持了心力衰竭是一种进行性综合征,与非心脏因素非常相关的观点。心律失常的表现可能是、或是以下体征或症状中的至少1种、至少2种、至少3种、至少4种、至少5种、至少6种、至少7种、至少8种、至少9种或至少10种:心悸、呼吸困难、疲劳、头晕、心绞痛、失代偿性心力衰竭、血流动力学功能障碍、心动过速诱发的心肌病和全身性血栓栓塞。

[0046] 为了实现这些方法,医生、医学从业人员或其员工可以获取生物学样本进行评估。样本可以由从业人员或其工作人员进行分析,或者可以将其发送到外部或独立的实验室。医学从业人员可能知道该测试是否提供有关患者的CYP2D6和/或 $\beta_1$ AR基因的信息,或者医学从业人员可能只知道该测试直接或间接表明患者的基因型反映了特定的基因型。

[0047] 在任何这些情况下,医学从业人员间接“知道”或确定相关信息,这些信息将使他或她能够确定布新洛尔是否是适当的治疗药物。可以设想,例如,实验室进行测试以确定患者的基因型,这样工作人员也知道适当的信息。他们可以将所进行测试的具体结果报告给从业人员,或者实验室可以根据实验室结果简单地报告布新洛尔是合适的药物。此外,通过这些不同的渠道,可以了解患者在任何特定多态性和/或基因型方面的基因型。

[0048] 某些实施方案涉及包含对象的基因型谱的有形的计算机可读介质,其中所述基因型谱在CYP2D6基因的一个或两个等位基因和/或 $\beta_1$ AR基因中以一种或多种多态性显示序列。在某些方面,包含对象的基因型谱的介质表现出患者在 $\beta_1$ AR基因中是纯合的Arg389和/或是布新洛尔的超快、强和/或中等代谢者。

[0049] 本文还公开了治疗心脏病、预防心脏病、延迟心脏病发作或降低心脏病风险的方法,该方法包括向以下患者施用有效量的布新洛尔:(a)已被诊断出患有心力衰竭;(b)已经过测试,并发现左心室射血分数为至少0.40;和(c)已进行基因分型,并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。在一些实施方案中,被治疗、预防、或其发作被延迟或其风险降低的心脏病是心力衰竭,在一些实施方案中包括慢性心力衰竭、或新发性、复发性或正在进行的心房颤动、心房扑动、心室颤动、心室心动过速、射血分数降低的心力衰竭(HFrEF)、具有中等范围射血分数(HFmrEF)的心力衰竭、具有保留射血分数(HFpEF)的心力衰竭、心动过速或心律失常。在一些实施方案中,LVEF为至少约或约0.35、0.36、0.37、0.38、0.39、0.40、0.41、0.42、0.43、0.44、0.45、0.46、0.47、0.48、0.49、0.50、0.51、0.52、0.53、0.54、0.55、0.56、0.57、0.58、0.59、0.60、0.61、0.62、0.63、0.64、0.65、0.66、0.67、0.68、0.69、或0.70,或介于这些值的任何两个之间。例如,在一些实施方案中,LVEF大于或等于0.40且小于0.50,大于或等于0.45且小于0.50,大于或等于0.40且小于0.60,大于或等于0.40、0.45、0.50或0.60。在一些实施方案中,在施用前少于1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、29天、或30天,或在施用前少于1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、或12个月进行步骤(b)的LVEF测试。

[0050] 本领域普通技术人员将认识到,存在多种测量LVEF的方法,包括超声心动图、MRI或核压力测试(核医学扫描(多门采集MUGA)),最常见的方法是超声心动图。

[0051] 在一些实施方案中,在施用前少于1年、2年、3年、4年、5年、6年、7年、8年、9年、10

年、11年、或12年,或在施用前少于1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、13个月、14个月、15个月、16个月、17个月、18个月、19个月、20个月、21个月、22个月、23个月、或24个月,或在施用前少于1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、29天、30天、40天、50天、60天、90天、120天、150天、或180天患者被最初诊断为心力衰竭。在一些实施方案中,在施用前少于1年、2年、3年、4年、5年、6年、7年、8年、9年、10年、11年、或12年,或在施用前少于1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、13个月、14个月、15个月、16个月、17个月、18个月、19个月、20个月、21个月、22个月、23个月、或24个月,或在施用前少于30天、60天、90天、120天、150天、或180天患者最初发展为心力衰竭。

[0052] 如本文中所使用的,当患者首次被诊断出患有疾病时,该患者被“最初诊断为”患有疾病。如本文所使用的,诊断发生在医护人员断定患者具有疾病或病症后,或者(1)在医疗记录中记录该结论,(2)向患者传达该结论,或者(3)开出治疗疾病或病症的药物。

[0053] 在一些实施方案中,进一步诊断出患者具有心房颤动或心房扑动。在一些实施方案中,在施用前在介于以下之间的时间或少于1年、2年、3年、4年、5年、6年、7年、8年、9年、10年、11年、12年、13年、14年、15年、16年、17年、18年、19年、或20年(或其中可获得的任何范围),或在施用前在介于以下之间的时间或少于1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、13个月、14个月、15个月、16个月、17个月、18个月、19个月、20个月、21个月、22个月、23个月、或24个月(或其中可获得的任何范围),或在施用前少于30天、60天、90天、120天、150天、或180天患者被最初诊断为心房颤动或心房扑动。在一些实施方案中,在施用布新洛尔之前少于12年患者发展为或被最初诊断为心房颤动或心房扑动。在一些实施方案中,患者已经被诊断出患有心力衰竭和心房颤动(或心房扑动)。在一些实施方案中,在施用前少于1年、2年、3年、4年、5年、6年、7年、8年、9年、10年、11年、或12年,或在施用前少于1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、13个月、14个月、15个月、16个月、17个月、18个月、19个月、20个月、21个月、22个月、23个月、或24个月,或在施用前少于30天、60天、90天、120天、150天、或180天患者最初发展为心房颤动或心房扑动。在一些患者已经被诊断出患有心力衰竭和心房颤动的实施方案中,相应的诊断是同时发生的或彼此之间的时间较短。在一些实施方案中,在不同时间诊断患者。在一些实施方案中,在被最初诊断患有心力衰竭之前或之后少于2年,患者被最初诊断为心房颤动。在一些实施方案中,在被最初诊断为心力衰竭之前或之后少于1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、13个月、14个月、15个月、16个月、17个月、18个月、19个月、20个月、21个月、22个月、23个月、24个月、25个月、26个月、27个月、28个月、29个月、30个月、31个月、32个月、33个月、34个月、35个月、或36个月(或其中可获得的任何范围)患者被最初诊断为心房颤动。

[0054] 在一些实施方案中,在施用布新洛尔时患者处于窦性心律。在一些实施方案中,在施用布新洛尔之前在以下时间内或少于1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、29天、或30天(或其中可获得的任何范围)测试患者,并且患者被发现处于窦性心律。

[0055] 在一些实施方案中,每天向患者施用药约12.5mg至200mg的布新洛尔。在一些实施方案中,每天向患者施用至少约、或至多约、或约5mg、7.5mg、10mg、12.5mg、15mg、20mg、25mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、100mg、110mg、120mg、130mg、140mg、150mg、160mg、170mg、180mg、190mg、200mg、210mg、220mg、230mg、240mg、或250mg,或介于这些值的任何两个之间的布新洛尔。在一些实施方案中,以每天约0.15mg/kg至5mg/kg的剂量向患者施用布新洛尔。在一些实施方案中,以每天至少约、至多约、或约0.05mg/kg、0.10mg/kg、0.15mg/kg、0.2mg/kg、0.3mg/kg、0.4mg/kg、0.5mg/kg、0.6mg/kg、0.7mg/kg、0.8mg/kg、0.9mg/kg、1.0mg/kg、1.1mg/kg、1.2mg/kg、1.3mg/kg、1.4mg/kg、1.5mg/kg、1.6mg/kg、1.7mg/kg、1.8mg/kg、1.9mg/kg、2.0mg/kg、2.1mg/kg、2.2mg/kg、2.3mg/kg、2.4mg/kg、2.5mg/kg、2.6mg/kg、2.7mg/kg、2.8mg/kg、2.9mg/kg、3.0mg/kg、3.1mg/kg、3.2mg/kg、3.3mg/kg、3.4mg/kg、3.5mg/kg、3.6mg/kg、3.7mg/kg、3.8mg/kg、3.9mg/kg、4.0mg/kg、4.1mg/kg、4.2mg/kg、4.3mg/kg、4.4mg/kg、4.5mg/kg、4.6mg/kg、4.7mg/kg、4.8mg/kg、4.9mg/kg、5.0mg/kg、5.1mg/kg、5.2mg/kg、5.3mg/kg、5.4mg/kg、5.5mg/kg、5.6mg/kg、5.7mg/kg、5.8mg/kg、5.9mg/kg、或6.0mg/kg,或介于这些值的任何两个之间的剂量向患者施用布新洛尔。

[0056] 还公开了一种治疗心房颤动、预防心房颤动或延迟心房颤动发作的方法,该方法包括向患者施用有效量的布新洛尔:所述患者(a)经过测试,并发现左心室射血分数为至少0.40;和(b)已经基因分型,并发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。在一些实施方案中,心房颤动是新发性心房颤动;也就是说,该患者先前未被诊断为心房颤动或先前未经历过心房颤动的症状。在一些实施方案中,首次施用布新洛尔预防心房颤动、延缓心房颤动发作和/或降低发生心房颤动的风险。在一些实施方案中,心房颤动是复发性心房颤动;也就是说,患者先前已被诊断为心房颤动,可能包括症状性心房颤动和/或阵发性心房颤动。在一些实施方案中,施用布新洛尔预防复发性心房颤动、延迟复发性心房颤动发作和/或降低发展复发性心房颤动的风险。在一些实施方案中,施用布新洛尔可以预防其他心脏病、延迟其他心脏病的发作和/或降低其他心脏病发展的风险,其他心脏病包括例如心房扑动、新发性心房扑动、复发性心房扑动、心律失常、新发性心律失常、或复发性心律失常。在一些实施方案中,患者进一步被诊断为心力衰竭。在一些实施方案中,在施用前少于12年,患者被最初诊断为心力衰竭。在一些实施方案中,进一步诊断出患者患有心房颤动。在一些实施方案中,在施用前少于12年,患者被最初诊断为心房颤动。在一些实施方案中,在最初被诊断为心力衰竭之前少于2年,之后少于2年,或者之前或之后少于2年,患者被最初诊断为心房颤动。在一些实施方案中,已经对患者进行了测试并且被发现LVEF为至少0.45、至少0.50、至少0.55或至少0.60。在一些实施方案中,还对患者进行了测试,并被发现在施用前少于1天处于窦性心律。在一些实施方案中,每天向患者施用药约12.5mg至200mg的布新洛尔。在一些实施方案中,每天向患者施用药约0.15mg/kg至5mg/kg的布新洛尔。

[0057] 还公开了一种治疗患者心房颤动、预防患者心房颤动、延迟患者心房颤动发作或降低患者心房颤动风险的方法,该方法包括:(a)获得表明患者左心室射血分数为至少0.40的测试结果;和(b)在步骤(a)之后向患者施用有效量的布新洛尔。在一些实施方案中,在步骤(b)的施用之前,进一步将患者基因分型并发现其对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0058] 还公开了一种治疗心房颤动、预防心房颤动、延迟心房颤动发作或降低心房颤动

风险的方法,该方法包括在确定患者(a)左心室射血分数为至少0.40和(b)对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的后向患者施用有效量的布新洛尔。

[0059] 还公开了一种治疗心力衰竭的方法,该方法包括向患者施用有效量的布新洛尔,所述患者(a)经过测试,并被发现左心室射血分数为至少0.40;和(b)已进行了基因分型,并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。在一些实施方案中,在施用前少于12年,患者进一步被最初诊断为心力衰竭。在一些实施方案中,在施用前少于12年并且在被最初诊断为心力衰竭之前或之后少于2年,患者进一步被最初诊断为心房颤动。

[0060] 应该理解,在被最初诊断为心力衰竭之前或之后少于2年被最初诊断为心房颤动的意思是患者在被最初诊断为心力衰竭的2年之内已经被最初诊断为心房颤动。实施方案涉及患者1)被最初诊断为心力衰竭之前少于2年被最初诊断为心房颤动;2)被最初诊断为心力衰竭后少于2年被最初诊断为心房颤动;和/或3)在被最初诊断为心力衰竭的两年内被最初诊断为心房颤动。

[0061] 还公开了一种治疗复发性或新发性心房扑动、预防复发性或新发性心房扑动、延迟复发性或新发性心房扑动发作或降低复发性或新发性心房扑动风险的方法,该方法包括向患者施用有效量的布新洛尔,所述患者(a)经过测试,并被发现左心室射血分数为至少0.40;和(b)已进行了基因分型,并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。在一些实施方案中,在施用前少于12年,患者进一步被最初诊断为心力衰竭。在一些实施方案中,在施用前少于12年并且在被最初诊断为心力衰竭之前或之后少于2年,患者进一步被最初诊断为心房颤动。

[0062] 还公开了一种治疗复发性或新发性心律失常、预防复发性或新发性心律失常、延迟复发性或新发性心律失常发作或降低复发性或新发性心律失常风险的方法,该方法包括向患者施用有效量的布新洛尔,所述患者(a)经过测试,并被发现左心室射血分数为至少0.40;和(b)已进行了基因分型,并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。在一些实施方案中,在施用前少于12年,患者进一步被最初诊断为心力衰竭。在一些实施方案中,在施用前少于12年并且在被最初诊断为心力衰竭之前或之后少于2年,患者进一步被最初诊断为心房颤动。

[0063] 还公开了一种保持正常窦性心律的方法,该方法包括向患者施用有效量的布新洛尔,所述患者(a)经过测试,并被发现左心室射血分数为至少0.40;和(b)已进行了基因分型,并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。在一些实施方案中,在施用前少于12年,患者进一步被最初诊断为心力衰竭。在一些实施方案中,在施用前少于12年并且在被最初诊断为心力衰竭之前或之后少于2年,患者进一步被最初诊断为心房颤动。

[0064] 还公开了一种保持正常窦性心律的方法,该方法包括向患者施用有效量的布新洛尔,所述患者(a)已被诊断为心力衰竭;(b)已被诊断为症状性心房颤动或心房扑动;(c)经过测试,并被发现左心室射血分数为大于或等于0.40且小于0.50;(d)在施用时处于窦性心律;和(e)已进行了基因分型,并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。在一些实施方案中,保持正常的窦性心律包括引起心房颤动或心房扑动的复发时间延迟。在一些实施方案中,保持正常的窦性心律包括降低新发性或复发性心房颤动或心房扑动的风险。

[0065] 还公开了一种治疗心脏病、预防心脏病、延迟心脏病发作或降低心脏病风险的方法,该方法包括在确定患者(a)具有心力衰竭;(b)左心室射血分数为至少0.40;和(c)已进

行了基因分型,并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的之后向患者施用有效量的布新洛尔。

[0066] 还公开了一种治疗患者心脏病、预防患者心脏病、延迟患者心脏病发作的方法,该方法包括:(a)获得表明患者具有心力衰竭,且其左心室射血分数为至少0.40的测试结果;和(b)在步骤(a)之后向患者施用有效量的布新洛尔。在一些实施方案中,该方法还包括在步骤(b)的施用之前获得显示患者对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的测试结果。

[0067] 还公开了一种治疗心脏病、预防心脏病、延迟心脏病发作或降低心脏病风险的方法,该方法包括向患者施用有效量的布新洛尔,所述患者经测试并被发现左心室射血分数为至少0.40。在一些实施方案中,心脏病是心力衰竭或新发性、复发性或正在进行的心房颤动、心房扑动、心动过速或心律失常。在一些实施方案中,进一步对患者进行了基因分型并发现其对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。在一些实施方案中,患者被进一步诊断为心力衰竭。在一些实施方案中,患者被进一步诊断为心房颤动。在一些实施方案中,在最初被诊断患有心力衰竭之前或之后少于2年,患者被最初诊断为心房颤动。在一些实施方案中,在施用前少于12年,患者被最初诊断为心房颤动,并且在施用前少于12年被最初诊断为心力衰竭。

[0068] 还公开了一种预防患者心房颤动或延迟患者心房颤动发作的方法,该方法包括向患者施用有效量的布新洛尔,所述患者(a)在施用前少于12年被最初诊断为心力衰竭;(b)在施用前少于12年被最初诊断为心房颤动;(c)经过测试并被发现在施用前12个月内左心室射血分数小于0.50;和(d)已进行基因分型,并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。在一些实施方案中,左心室射血分数等于或大于0.40且小于0.50或小于0.40。在一些实施方案中,在被最初诊断为心力衰竭2年内,患者被最初诊断为心房颤动。在一些实施方案中,在被最初诊断患有心力衰竭之前少于2年,患者被最初诊断为心房颤动。在一些实施方案中,在患者被诊断为心力衰竭之前被诊断为心房颤动。在一些实施方案中,在施用前患者处于窦性心律。在一些实施方案中,在施用前,患者进一步被诊断为患有持续性或阵发性心房颤动或具有持续性或阵发性心房颤动的症状。在一些实施方案中,通过心电图、心电图贴片、经电话传输监护仪或植入装置来记录心房颤动。在一些实施方案中,心房颤动引起新的或恶化的症状。在一些实施方案中,心力衰竭诊断基于以下一种或多种体征或症状:呼吸急促、易疲劳、阵发性夜间呼吸困难、端坐呼吸和容量超负荷。在一些实施方案中,进一步对患者进行了测试,并发现其具有以下至少一项:(a) B型利尿钠肽的血液浓度为至少约100pg/ml;(b) N末端B型利尿钠肽前体的血液浓度为至少约125pg/ml,其中患者年龄为75岁或低于75岁;或(c) N末端B型利尿钠肽前体的血液浓度为至少约400pg/ml,其中患者的年龄大于75岁;或患者因心力衰竭而住院治疗。在一些实施方案中,B型利尿钠肽的血液浓度为至少约490pg/ml或N末端B型利尿钠肽前体的血液浓度为至少约3460pg/ml,并且患者为任何年龄。在一些实施方案中,患者目前未正在服用沙库巴曲和缬沙坦的组合,或在测试患者的B型利尿钠肽或N末端B型利尿钠肽前体的血液浓度后的1个月内,患者未曾服用沙库巴曲和缬沙坦的组合。在一些实施方案中,在施用前,患者的静息心率低于120bpm。在一些实施方案中,在施用前,患者的收缩压为90mmHg至150mmHg。在一些实施方案中,该方法还包括在施用前施用心脏电复律以使患者具有窦性心律。在一些实施方案中,患者正在服用规定的抗凝剂。在一些实施方案中,每天向患者施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。在一些实施方

案中,每天向患者施用约0.15mg/kg至5mg/kg的布新洛尔。

[0069] 还公开了一种治疗患者心脏病、预防患者心脏病、延迟患者心脏病发作或降低患者心脏病风险的方法,该方法包括向患者施用有效量的布新洛尔,所述患者(a)在施用前少于12年被最初诊断为心力衰竭;(b)在施用前少于12年且在被诊断为心力衰竭前少于2年被最初诊断为心房颤动;(c)经过测试,并被发现左心室射血分数等于或大于0.40且小于0.50;(d)处于窦性心律;和(e)已进行了基因分型,并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。在一些实施方案中,心脏病是心力衰竭或新发性或复发性心房颤动、心房扑动、心动过速或心律失常。

[0070] 还公开了一种治疗患者心脏病、预防患者心脏病、延迟患者心脏病发作或降低患者心脏病风险的方法,该方法包括在确定患者(a)在施用前少于12年被最初诊断为心力衰竭;(b)在施用前少于12年且在被诊断为心力衰竭之前少于2年被最初诊断为症状性心房颤动;(c)在施用前12个月内左心室射血分数等于或大于0.40且小于0.50;(d)处于窦性心律;和(e)对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的后向患者施用有效量的布新洛尔。在一些实施方案中,心脏病是心力衰竭或新发性或复发性心房颤动、心房扑动、心动过速或心律失常。

[0071] 还公开了一种治疗患者心脏病、预防患者心脏病、延迟患者心脏病发作或降低患者心脏病风险的方法,该方法包括向患者施用有效量的布新洛尔,所述患者(a)在施用前少于12年被最初诊断为心力衰竭;(b)在施用前少于12年且在被诊断为心力衰竭之前少于2年或2年内被最初诊断为心房颤动;(c)经过测试,被发现左心室射血分数等于或大于0.40、0.45或0.50;(d)处于窦性心律;和(e)已进行了基因分型,并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。在一些实施方案中,心脏病是心力衰竭、心房颤动、心房扑动、复发性心房颤动、复发性心房扑动或新发性心房扑动。

[0072] 还公开了一种降低患者发生心房颤动的风险的方法,该方法包括向患者施用有效量的布新洛尔,所述患者(a)经过测试,被发现左心室射血分数为至少0.40;和(b)已进行了基因分型,并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0073] 还公开了一种治疗心房颤动、预防心房颤动、延迟心房颤动发作或降低心房颤动风险的方法,该方法包括对患者施用有效量的布新洛尔,所述患者(a)在施用前少于10天、20天、30天、40天、50天、或60天,或在施用前少于1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、或12个月,或在施用前少于1年、2年、3年、4年、5年、6年、7年、8年、9年、10年、11年、或12年被诊断为心房颤动;和(b)已进行了基因分型,并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0074] 在本文公开的描述患者特征的任何方法中,例如患有疾病或病症(例如,心力衰竭、心房颤动、LVEF值、基因型等)的患者,预期这样的方法的实施方案可以包括向患有该疾病或病症的患者或已经诊断为该疾病或病症的患者施用有效量的布新洛尔。进一步预期,此类方法的实施方案可以另外地或可替代地包括在鉴定或确定患者患有疾病或病症或已经被诊断为患有疾病或病症之后向患者施用布新洛尔。还预期实施方案还可以另外地或可替代地包括首先获得显示或指示患者患有疾病或病症的测试或评估的结果,并且仅在获得此类结果之后才向患者施用布新洛尔。

[0075] 在整个本申请中讨论了本发明的多个实施方案。关于一个方面讨论的任何实施方案也适用于其他方面,反之亦然。本文所述的每个实施方案应理解为可应用于所有方面。可

以预期的是,可以针对任何方法或组合物来实现本文所讨论的任何实施方案,反之亦然。例如,在描述本文的某些实施方案时,公开了一些值,例如从疾病或病症的诊断开始的时间、在心力衰竭和心房颤动的诊断之间的时间、LVEF值、LVEF测试和心律失常测试的时间以及布新洛尔的剂量等。在某些实施方案中还公开了各种患者特征,例如具有或已经诊断为特定的疾病或病症。预期在一个实施方案的上下文中讨论的值、患者特征和其他特征也可以并入本文公开的任何其他实施方案中。此外,组合物和试剂盒可用于实现本文公开的方法。

[0076] 在涉及施用本文公开的布新洛尔的方法的实施方案中,施用具有以下作用的1项、2项、3项、4项、5项、6项、7项、8项、9项、10项或多于10项(或其中可获得的任何范围):减少全因死亡的风险;减少因心力衰竭导致死亡的风险;减少住院治疗的风险;减少因心力衰竭住院治疗的风险;减少因心力衰竭而住院治疗;减少卒中的风险;减少新发性或复发性心房颤动、心房扑动、心室心动过速、心室颤动、心动过速或心律失常的风险;减少需要例如心脏消融或抗心律失常药物的治疗的风险;增加延迟新发性或复发性心房颤动或心房扑动的发作;或改善生活质量。在其中降低事件或病症的风险的一些实施方案中,将风险降低至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、或95%。在减少住院时间的一些实施方案中,将住院时间减少至少或减少1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、29天、或30天(或其中可获得的任何范围)。

[0077] 术语“有效量”或“治疗有效量”指当施用于需要这种治疗的哺乳动物时,足以实现如本文所定义的治疗的本公开组合物的量。该量将取决于所治疗的对象和疾病状况、对象的体重和年龄、疾病状况的严重性、所选公开的具体组合物、待遵循的给药方案、施用时间、施用方式等,所有这些都可以通过本领域普通技术人员容易地确定。

[0078] 为各种取代基提供的“数值”和“范围”旨在涵盖所述范围内的所有整数。

[0079] 术语“任选的”或“任选地”指随后描述的事件或情况可能发生或可能不发生,并且该描述包括所述事件或情况发生的例子以及事件或情况未发生的例子。

[0080] 如本文所使用的,“药学上可接受的载体”或“药学上可接受的赋形剂”包括任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。在一些实施方案中,这些介质和试剂可以与药物活性物质组合使用。除非任何常规介质或试剂与活性成分不相容,否则考虑将其用于治疗组合物中。补充活性成分也可以掺入组合物中。

[0081] 术语“治疗”指对哺乳动物疾病或病症的任何治疗,包括抑制该疾病或病症、阻止或抑制临床症状的发展;改善疾病或病症的一种或多种生理作用;降低不良事件的严重性或风险;降低疾病或病症造成的死亡率;降低因疾病或病症而导致死亡的风险;减少由于疾病或疾病,对其他或替代疗法的需求,例如心脏消融或使用抗心律失常药物;降低与疾病或病症相关的新发性或复发性心房颤动、心房扑动、心室心动过速、心室颤动或心律失常的风险;降低因疾病或病症而住院治疗的风险;减少因疾病或病症而住院治疗的时间;增加延迟与该疾病或病症有关或由该疾病或病症引起的一种或多种症状或病症的发作;减轻疾病或病症;和/或引起疾病或病症的临床症状消退。

[0082] 方法可以涉及一种或多种化合物、组合物和/或药剂的多次施用。在某些实施方案中,在施用诱导耐受性的组合物之前,向细胞或对象提供耐受性诱导剂。预期在本发明

的某些实施方案中,化合物、组合物和/或试剂可以配制成药学上可接受的制剂。

[0083] 当在权利要求和/或说明书中与术语“包括”结合使用时,不使用数量词可能表示“一个”,但是也与“一个或多个”、“至少一个”和“一个或多个”的含义一致。

[0084] 在本申请中,术语“约”用于表明值包括用于确定值使用的装置或方法的误差的标准差。

[0085] 在权利要求中使用术语“或”表示“和/或”,除非明确地说明仅指选择或选择是相互排斥的,尽管公开支持仅指选择和“和/或”的定义。还预期使用术语“或”所列出的任何事物也可以特别地被排除在外。

[0086] 如本说明书和权利要求所使用的,词语“包含”、“具有”、“包括”或“含有”是包括性的或开放式的,并且不排除附加的、未列举的要素或方法步骤。预期在术语“包含”的上下文中描述的实施方案也可以在术语“由...组成”或“基本上由...组成”的上下文中实现。整个说明书中所公开的组合物和方法可以“包括”特定元素、组件、方法步骤等,“基本上由”或“由”特定元素、组件、方法步骤等“组成”。

[0087] 预期可以相对于本文描述的任何其他方法或组合物来实施本文描述的任何方法或组合物,并且可以组合不同的实施方案。

[0088] 可基于本文所述方法使用一种或多种组合物。在整个本申请中讨论了其他实施方案。关于本公开一方面所讨论的任何实施方案也可以适用于本公开的其他方面,反之亦然。实例部分中的实施方案应理解为适用于本文所述技术的所有方面的实施方案。

[0089] 通过下面的详细描述,本发明的其他目的、特征和优点会变得明显。然而,应该理解详细描述和具体的实施例尽管表明本发明的优选实施方案,但其仅通过举例说明给出,因为在本发明的精神和范围内的各种变化和修改通过该详细描述对本领域技术人员会变得明显。

## 附图说明

[0090] 以下附图形成本说明书的一部分,并被包含以进一步证实本发明的特定方面。通过参照一个或多个这些附图结合本文所提供的具体实施方案的详细说明可以更好地理解本发明。

[0091] 图1.GENETIC-AF的设计,布新洛尔相对于Toprol-XL的“无缝”2b期→3期适应性设计优势试验,用于预防具有ADRB1 Arg389Arg基因型的HF<sub>r</sub>EF患者的复发性心房颤动。患者的复发性AF的风险很高,定义为在试验中第0天进行后ECV,或过去180天内有AF发作史。2b期阶段针对250名可评估患者,而3期阶段将招募具有330例主要事件的另外370名患者(620)。

[0092] 图2.GENETIC-AF中主要操作事件的时间表。

[0093] 图3.预定阈值的边界,基于对任何复发性AF/AFL或ACM的2期主要终点时间的贝叶斯建模成功的预测概率。

[0094] 图4.4A中2期的主要终点,整个群体,协变量调整后的风险比,未调整=0.96(0.69,1.33), $p=0.80$ ;4B,美国随机化患者和协变量调整后的风险比,未调整=0.77(0.48,1.22), $p=0.27$ 。

[0095] 图5.国家特异性异质性对AF/AFL或ACM随时间的影响:5A,美国,5B,加拿大,5C,匈



牙利,5D,排除匈牙利的欧洲。协变量调整图上的风险比;未调整的风险比:5A,美国0.77 (0.48,1.22);5B,加拿大1.42 (0.72,2.79);5C,匈牙利3.57 (0.99,12.9);5D,排除匈牙利的欧洲0.50 (0.21,1.21)。

[0096] 图6.6A,2期主要终点(所有AF/AFL(症状性和非症状性)或ACM),协变量调整了整个群体。6B,整个群体中症状性AF/AFL或ACM的3期主要终点,协变量调整。

[0097] 图7.根据对AFB亚研究(7A)和美国AFB群体(7B)的患者使用植入装置进行连续监测得出的AF/AFL/ACM事件时间。

[0098] 图8.8A,在整个AFB群体(n=69)和8B,在美国患者(n=42)中,AFB亚研究终点相对于临床/ECG检测终点。

[0099] 图9.在GENETIC-AF中,AFB每隔6周间隔一次,9A,无检查。9B,在AF治疗时检查的数据包括:a)心脏电复律(n=28),b)导管消融(n=5),c)III类AAD(多非利特、胺碘酮、索他洛尔)(n=26)或永久停用研究药物(n=6)。

[0100] 图10.在10A整个群体和10B美国随机化的患者中除去LVEF $\geq$ 0.39并且DTRI $\leq$ -30天的患者。图上的风险比未经协变量调整。

[0101] 图11.AF/AFL或ACM的时间:11A,LVEF $\leq$ 0.35,平均值0.27的美国GENETIC-AF患者(合并的终点成分为(N)AF/AFL 64,随访开始时ECV失败9,ACM 3);11B,最佳试验DNA亚研究的ADRB1 Arg389Arg患者的LVEF $\leq$ 0.35,平均值0.23,随机化时无AF或AFL(合并的终点成分为AF 36,AFL 3,ACM 66)。针对随机化分层调整两组K-M的风险比。

[0102] 图12.按治疗组,12A,ADRA2C插入322-325插入患者在GENETIC-AF中达到AF/AFL或ACM的时间;12B,相同终点,GENETIC-AF ADRA2C322-325缺失携带患者;12C,相同终点,最佳{ADRB1 Arg389Arg+ADRA2C插入322-325插入}基因型;12D,相同终点,最佳{ADRB1 Arg389Arg+ADRA2C 322-325缺失携带}基因型。

[0103] 图13. $\beta$ 阻滞剂用于治疗患有HF<sub>r</sub>EF的患者的HF<sub>r</sub>EF的作用,并在永久性AF患者中对照安慰剂随机化治疗。ACM(全因死亡率)数据来自Kotecha等人<sup>28</sup>,永久性AF的108名ADRB1 Arg389Arg患者随机化的最佳试验数据来自Kao等人<sup>24</sup>。

[0104] 图14.具有LVEF $<$ 0.40,或LVEF $\geq$ 0.40, $<$ 0.50且DTRI $>$ -30天的GENETIC-AF患者,A.整个群体,B.美国患者。图上的风险比未经协变量调整。

[0105] 图15.适用图10中标准的GENETIC-AF数据,加上除去整个群体和美国患者中10PM的18个CYP2D6 PM。15A.整个群体。15B.美国患者。图上的风险比未经协变量调整。

[0106] 图16.GENETIC AF II试验的流程图。

[0107] 图17.诊断到随机化指数(DTRI)的一个实施方案,显示为从心力衰竭(HF)到随机化的时间-从心房颤动诊断到随机化的时间。

[0108] 图18.DTRI实施方案的另一说明。

[0109] 图19提供了特定CYP2D6等位基因变体的代谢表型。

[0110] 图20关系图。

[0111] 图21到首次AF/AFL/ACM事件的时间。针对四个随机化分层调整的Cox比例风险模型。非分层分析:风险比=0.96(95% CI:0.69,1.33)。分层分析包括对之前使用III类抗心律失常药物的调整(是/否):HR=0.92(95% CI:0.63,1.33)。

[0112] 图22A和图22B在装置亚研究中到AF/AFL/ACM首次事件的时间。A.基于装置的检

测。B. 基于ECG的检测。对于基于装置的检测, AF/AFL事件定义为每天AF负担 $\geq 6$ 小时。非分层的Cox比例风险模型。

[0113] 图23A和图23B在随机化之前通过AF和HF的持续和相对发作的治疗效果A. HF DxT (x轴) 和AF DxT (y轴) 相对于治疗效果 (z轴) 的3维图。B. 在HF发作之前AF发作 (x轴) 和在AF发作之前HF发作 (y轴) 相对于治疗效果 (z轴) 的3维图。风险比是指到AF/AFL/ACM终点的时间。AF DxT=从最初的AF诊断到随机化的时间。HF DxT=从最初的HF诊断到随机化的时间。DTRI (诊断到随机化指数) = HF DxT - AF DxT。HF发作之前AF发作 = DTRI下限的绝对值。在AF发作之前HF发作 = DTRI上限。

[0114] 图24A和图24B在DxT12/DTRI-2群体中到AF/AFL/ACM首次事件的时间。A. 整个群体中基于ECG的检测。B. 在亚研究群体中基于装置的检测。对于基于装置的检测, AF/AFL事件 = 每天AF负担 $\geq 6$ 小时。HR = 风险比。FU = 随访。

[0115] 图25A至图25C到A. 美国群体; B. 加拿大群体; C. 欧洲群体的区域首次AF/AFL/ACM事件的时间。针对四个随机化分层调整的Cox比例风险模型。

[0116] 图26BEST HF试验中的HF的治疗效果和持续时间。整个群体 (空心圆,  $n=2708$ ) 和ADRB1 Arg389Arg亚组 (实心圆,  $n=493$ )。分析比是指首次心力衰竭住院重量或布新洛尔和安慰剂死亡的时间。HF DxT=从最初的HF诊断到随机化的时间。Rxy = 相关系数。Arg389Arg = 对于ADRB1 Arg389纯合的患者。

[0117] 图27AF和HF持续的治疗效果。治疗效果相对于AF/HF DxT (即HF DxT和AF DxT都 $< X$ 年)。风险比是指到AF/AFL/ACM终点的时间。AF/HF DxT=从最初的AF和HF诊断到随机化的时间。

[0118] 图28A和图28B与AF和HF相对发作的治疗效果关系 (DTRI)。A. 治疗效果相对于DTRI上限和下限的绝对值。B. DxT12群体和排除DxT12标准的群体的DTRI分布直方图。风险比是指到AF/AFL/ACM终点的时间。DTRI = 诊断到随机化指数。DxT12 = 随机化前AF和HF $< 12$ 年的群体。X轴间隔2年。

[0119] 图29DxT12群体中的治疗效果以及AF和HF的相对发作。DxT12群体中HF发作前的AF发作 (x轴) 和AF发作前HF发作 (y轴) 相对于治疗效果 (z轴) 的3维图。风险比是指到AF/AFL/ACM终点的时间。DTRI (诊断到随机化指数) = HF DxT - AF DxT。HF发作之前AF发作 = DTRI下限的绝对值。AF发作之前HF发作 = DTRI上限。DxT12 = 随机化前AF和HF $< 12$ 年的群体。

[0120] 图30LVEF与治疗效果之间的关系。X轴显示DxT12/DTRI-2群体, 并限制LVEF的上限和下限。例如, LVEF上限为35%时, 包括LVEF为最小值 (12%) 至35%的所有患者; LVEF下限为35%包括LVEF为最大值 (53%) 至35%的所有患者。

[0121] 图31根据进入标准, 3期成功的可能性。

图32PRECISION-AF的访视时间表。

## 具体实施方式

[0122] 本公开一般地涉及使用布新洛尔治疗患者的方法、组合物和试剂盒。药物基因组学和其他标准允许临床医生或内科医师将预防性或治疗性疗法靶向至最受益于该疗法的个体, 并避免治疗会出现症状性副作用的个体。因此, 内科医师或临床医生可考虑应用相关药物基因组学分析中获得的知识来确定是否施用布新洛尔以及是否改变待施用的剂量、

方案和/或治疗有效量,从而获得由该治疗带来的期望疗效。在一些实施方案中,内科医师或临床医生可以通过添加其他疗法或使用以布新洛尔进行治疗的替代疗法来改变对象的治疗。

[0123] 布新洛尔是一种 $\beta$ -阻滞剂/血管扩张剂,其具有独特的药理特性,包括对人 $\beta_1$ -肾上腺素能受体的变体(氨基酸第389位的精氨酸(Arg))产生交感神经作用(去甲肾上腺素降低)和反向激动作用。该变体由ADRB1基因Arg389Gly多态性的主要等位基因编码,该等位基因在美国群体中分别具有0.70的等位基因频率和0.49的纯合基因型频率。与389Gly对应物相比,Arg版本的编码受体蛋白具有明显更强的信号转导功能和去甲肾上腺素亲和力。在先前的在由于左心室射血分数降低而导致晚期心力衰竭(HFrEF)的1040名患者中进行的大型安慰剂对照临床试验(BEST)亚研究中,布新洛尔治疗与对于ADRB1Arg389(Arg389Arg)纯合的患者中预防心律失常以及心力衰竭事件的反应增强有关。

[0124] 在由于左心室射血分数降低而导致晚期心力衰竭(HFrEF)的1040名患者中进行了大型安慰剂对照临床试验(BEST)亚研究,其中布新洛尔治疗与在对于ADRB1Arg389(Arg389Arg)纯合的患者中预防心律失常以及心力衰竭事件的反应增强有关。1040名患者的BEST药物遗传学亚研究包括925名随机有窦性心律(SR)且具有发生AF风险的患者。发现布新洛尔的治疗作用仅限于对ADRB1 $\beta_1$ -肾上腺素能受体Arg389Gly多态性的主要等位基因纯合的患者。

[0125] 已经证明,向射血分数降低的心力衰竭(HF)患者(HFrEF)施用 $\beta$ 阻滞剂可预防AF的发展<sup>11</sup>。在这项荟萃分析中<sup>11</sup>, $\beta$ 阻滞剂与安慰剂相比,新发展出AF的平均相对风险为0.73(0.61,0.86),其中在MERIT-HF试验中使用琥珀酸美托洛尔<sup>12</sup>,在BEST中使用盐酸布新洛尔<sup>13</sup>,其分别提供15%和36%的数据。

[0126] 在先前的研究中<sup>12,13</sup>,两种 $\beta$ 阻滞剂均与安慰剂进行了比较。由于琥珀酸美托洛尔对ADRB1 Arg389受体和Gly受体没有治疗偏好,因此可以估计这两种化合物在HFrEF患者中预防AF的相对有效性。相对效应大小(RES)公式为 $RES = \ln HzR_1 / \ln HzR_2$ <sup>29</sup>,其中 $HzR_1$ 是ADRB1 Arg389Arg基因型患者的布新洛尔风险比<sup>13</sup>, $HzR_2$ 是美托洛尔风险比<sup>12,13</sup>,得出的预测相对效应大小为2.1倍有利于布新洛尔。这相当于在特定实施方案中,直接比较布新洛尔与美托洛尔时,风险比为0.49,效应大小为51%。

[0127] 某些实施方案涉及包含布新洛尔(2-(3-(1-(1H-吡啶-3-基)-2-甲基丙-2-氨基)-2-羟基丙氧基)苄腈)的方法和组合物,其应理解为包括盐酸布新洛尔,除非明确排除。

[0128] 在一些实施方案中,方法和组合物涉及基本上不含其R-立体异构体的布新洛尔。如果组合物包含S-布新洛尔和(任选的)R-布新洛尔的混合物,则该组合物“基本上不含”R-布新洛尔,其中如果存在R-布新洛尔,则其重量不超过组合物中S-布新洛尔和R-布新洛尔总重量的约20%。在一些实施方案中,相对于组合物中S-布新洛尔和R-布新洛尔的总重量,组合物可包含不超过约20重量%、19重量%、18重量%、17重量%、16重量%、15重量%、14重量%、13重量%、12重量%、11重量%、10重量%、9重量%、8重量%、7重量%、6重量%、5重量%、4.9重量%、4.8重量%、4.7重量%、4.6重量%、4.5重量%、4.4重量%、4.3重量%、4.2重量%、4.1重量%、4.0重量%、3.9重量%、3.8重量%、3.7重量%、3.6重量%、3.5重量%、3.4重量%、3.3重量%、3.2重量%、3.1重量%、3.0重量%、2.9重量%、2.8重量%、2.7重量%、2.6重量%、2.5重量%、2.4重量%、2.3重量%、2.2重量%、2.1重量%、2.0重

量%、1.9重量%、1.8重量%、1.7重量%、1.6重量%、1.5重量%、1.4重量%、1.3重量%、1.2重量%、1.1重量%、或1.0重量%或其中可获得的任何范围的R-布新洛尔。在一些具体的实施方案中,相对于组合物中S-布新洛尔和R-布新洛尔的总重量,基本上不含R-布新洛尔的组合物包含不超过约20重量%的R-布新洛尔。在更具体的实施方案中,相对于组合物中S-布新洛尔和R-布新洛尔的总重量,组合物包含不超过约10重量%的R-布新洛尔。在更具体的实施方案中,相对于组合物中S-布新洛尔和R-布新洛尔的总重量,本发明的组合物包含不超过约10重量%的R-布新洛尔。在更具体的实施方案中,相对于组合物中S-布新洛尔和R-布新洛尔的总重量,本发明的组合物包含不超过约1重量%的R-布新洛尔。在美国专利9446023和9763916中提供了涉及(S)-布新洛尔的其他组合物和方法,其通过引用并入本文。

[0129]  $\beta$ 阻滞剂的施用可以通过多种途径进行,包括但不限于经口、静脉内、肌肉内、动脉内、髓内、鞘内、心室内、皮内、气管内、囊内、眼内、经皮、皮下、腹膜内、鼻内、肠内、局部、舌下或直肠。有关制剂和施用技术的更多详细信息可以参见最新版的Remington's Pharmaceutical Sciences (Maack Publishing Co., Easton, Pa.)。在某些实施方案中,将布新洛尔配制用于经口施用。

[0130] 在考虑临床应用的情况下,药物组合物将制备成适于预期应用的形式。通常,这将需要制备基本上不含热原以及其他可能对人或动物有害的杂质的组合物。

[0131] 短语“药学上或药理学上可接受的”指当施用于动物或人时不会产生不利、过敏或其他不良反应的分子实体和组合物。如本文所使用的,“药学上可接受的载体”包括用于配制药剂例如适用于施用于人的药物的可接受的溶剂、缓冲剂、溶液、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。此类介质和试剂用于药物活性物质的用途是本领域众所周知的。除非任何常规介质或试剂与本发明的活性成分不相容,否则考虑将其用于治疗组合物中。补充的活性成分也可以并入组合物中,只要它们不会使布新洛尔或其他活性成分失活。

[0132] 在一些实施方案中,用包括布新洛尔和另一种药剂的组合物治疗患者。在某些实施方案中,药剂是另外的 $\beta$ -肾上腺素能受体阻滞剂。 $\beta$ -肾上腺素能受体阻滞剂的非限制性实例包括AC 623、醋丁洛尔、阿普洛尔、氨磺洛尔、阿罗洛尔、阿替洛尔、苯呋洛尔、倍他洛尔、贝凡洛尔、比索洛尔、波吡洛尔、布库洛尔、布非洛尔、丁呋洛尔、布尼洛尔、布拉洛尔、布替君盐酸盐、丁非洛尔、卡拉洛尔、卡替洛尔、卡维地洛、塞利洛尔、塞他洛尔、氯拉洛尔、地来洛尔、艾司洛尔、茚诺洛尔、拉贝洛尔、兰地洛尔、左旋布诺洛尔、甲吡洛尔、美替洛尔、美托洛尔、莫普洛尔、纳多洛尔、萘呋洛尔、奈必洛尔、硝苯洛尔、尼普洛尔、氧烯洛尔、喷布洛尔、吲哚洛尔、普拉洛尔、丙萘洛尔、普萘洛尔、索他洛尔、硫氧洛尔、他林洛尔、特他洛尔、替利洛尔、噻吗洛尔、托利洛尔和希苯洛尔。

[0133] 在其他实施方案中,组合物可以包含一氧化氮(NO)增强剂。NO增强剂的实例是本领域普通技术人员众所周知的。此类试剂的实例包括RAS抑制剂、他汀类、PDE5抑制剂、NO缀合的药物或二醇二氮烯鎓(diazoniumdiolate)。RAS抑制剂的非限制性实例包括卡托普利、西拉普利、依那普利、福辛普利、赖诺普利、奎那普利、雷米普利、佐芬普利、坎地沙坦酯、依普沙坦、厄贝沙坦、氯沙坦、他索沙坦、替米沙坦、和缬沙坦、或其药学上可接受的盐。他汀类的非限制性实例包括阿托伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、普伐他汀、瑞舒伐他汀钙和辛伐他

汀。NO缀合的药物的非限制性实例包括S-NO-谷胱甘肽、NO-萘普生、NO-阿司匹林、NO-布洛芬、NO-双氯芬酸、NO-氟比洛芬、NO-酮洛芬、NO-释放化合物-7、NO-释放化合物5、NO-释放化合物12、或NO-释放化合物18。NO增强剂的其他实例包括L-精氨酸，精氨酸 $\alpha$ -酮戊二酸酯、GEA 3175、硝普钠、三硝酸甘油酯、S-亚硝基-N-乙酰基-青霉胺、硝酸甘油和二乙胺NONOate。有关用于治疗高血压和动脉粥样硬化的NO生成化合物的信息可以在美国专利7396829、7348319、7155284、7052695、6358536和5208233中找到，其中的每一个通过引用具体地并入本文中。关于奈必洛尔作为NO增强剂的信息可以在美国专利7138430中找到，其通过引用具体地并入本文中。

[0134] 本文所述药物组合物的施用可以通过本领域普通技术人员已知的任何方法进行。实例包括但不限于经口、静脉内、肌内、动脉内、髓内、鞘内、心室内、皮内、气管内、囊内、眼内、经皮、皮下、腹膜内、鼻内、肠内、局部、舌下或直肠施用。在下面的说明书中可以找到有关制剂和施用技术的更多细节。

[0135] 在一些实施方案中，所述方法还包括使患者与包含布新洛尔的医疗装置接触。例如，医疗装置可包括包含布新洛尔的涂层、包含布新洛尔的基质或包含如上所述的治疗组合物的储库。该装置可以临时插入患者体内或植入患者体内或放置在患者的身体表面。此类身体表面的实例包括皮肤表面或黏膜表面。

[0136] 该医疗装置可以是本领域普通技术人员已知的任何医疗装置。此类医疗装置的非限制性实例包括支架、移植物、心脏瓣膜、过滤器、导管、线圈、网状修复材料、板、杆、螺钉或缝合线。实施方案还涉及包括涂层、基质或室的医疗装置，其中涂层、基质或室包含布新洛尔。此类医疗装置的非限制性实例包括支架、移植物、心脏瓣膜、过滤器、导管、线圈、网状修复材料、板、杆、螺钉和缝合线。这类过滤器的实例是下腔静脉过滤器。这类导管的实例是药物输注导管。这类线圈的实例是栓塞线圈。

[0137] 多态性的检测

[0138] 本文所述的CYP2D6多态性存在于CYP2D6基因中的各个位置或整个CYP2D6基因中。另一个多态性是 $\beta_1$ AR基因中的1165位，其可能在蛋白质的389位产生精氨酸或甘氨酸氨基酸残基。可以从基因序列或通过使用多态性的特定特征，例如限制酶识别位点、杂交等来确定多态性的存在。因此，可以采用多种不同的方法来检测基因的多态性。或者，可以评估蛋白质基因产物以确定患者的基因型。

[0139] 核酸

[0140] 某些实施方案涉及各种核酸，包括扩增引物、寡核苷酸探针和基因组DNA分析中涉及的其他核酸元件。在某些方面，核酸包含野生型、突变体或多态性核酸。

[0141] 在一些实施方案中，在实施方案中使用的核酸包含人CYP2D6基因或人 $\beta_1$ AR基因的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、

720、730、740、750、760、770、780、790、800、810、820、830、840、850、860、870、880、890、900、910、920、930、940、950、960、970、980、990、1000、1100、1165、1200、1300、1400、1500、或多于1500个连续核苷酸或其中可获得的任何范围或与这些核苷酸互补(参见美国专利7678824,其通过引用并入本文)。本领域技术人员知道如何设计和使用引物和探针用于人CYP2D6基因或人 $\beta_1$ AR基因序列的杂交和扩增。在一些实施方案中,序列是CYP2D6或 $\beta_1$ AR编码序列(或其互补序列),或者基于CYP2D6或 $\beta_1$ AR转录物,例如该序列的cDNA。许多CYP2D6基因型测试可商购获得,例如可购自Luminex(参见网络:luminexcorp.com/clinical/genetic-testing/pharmacogenetics/cyp2d6/,其通过引用并入本文)。

[0142] 这些定义通常是指单链分子,但是在特定的实施方案中,还将包含与单链分子部分互补、基本上互补或完全互补的附加链。因此,核酸可以包含双链分子或三链分子,其包含含有分子的特定序列的一条或多于一条互补链或“互补体”。如本文所使用的,单链核酸可以用前缀“ss”表示,双链核酸可以用前缀“ds”表示,三链核酸可以用前缀“ts”表示。

#### [0143] 核酸的制备

[0144] 核酸可以通过本领域普通技术人员已知的任何技术来制备,例如化学合成、酶促制备或生物制备。合成的核酸(例如合成的寡核苷酸)的非限制性实例包括通过使用磷酸三酯、亚磷酸酯或亚磷酰胺化学和固相技术的体外化学合成所制备的核酸,例如在欧洲专利266032中所述,其通过引用并入本文;或通过脱氧核苷H-磷酸酯中间体所制备的核酸,如Froehler等人1986和美国专利5705629所述,其各自通过引用并入本文。在本发明的方法中,可以使用一种或多于一种寡核苷酸。在某些方面,可以在插入位点的两侧或与插入位点的边界重叠地设计扩增寡核苷酸。在另一方面,可以设计特定针对序列894位(无论是G还是T)的寡核苷酸。这些寡核苷酸的长度可以从5、10、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、50个核苷酸或多于50个核苷酸变化,包括其间的所有值和范围。寡核苷酸合成的各种不同机理已在例如美国专利4659774、4816571、5141813、5264566、4959463、5428148、5554744、5574146、5602244中公开,其各自通过引用并入本文。

[0145] 酶促制备的核酸的非限制性实例包括在扩增反应中由酶制备的核酸,例如PCR<sup>TM</sup>(参见例如,美国专利4683202和美国专利4682195,其各自通过引用并入本文),或美国专利5645897中描述的寡核苷酸的合成,其通过引用并入本文。生物制备的核酸的非限制性实例包括在活细胞中制备(即复制)的重组核酸,例如在细菌中复制的重组DNA载体(参见例如,Sambrook等人2001,其通过引用并入本文)。

#### [0146] 核酸的纯化

[0147] 可以在聚丙烯酰胺凝胶、氯化铯离心梯度、色谱柱上或通过本领域普通技术人员已知的任何其他方式纯化核酸(参见例如Sambrook等人2001,其通过引用并入本文)。

[0148] 在某些方面,实施方案涉及作为分离的核酸的核酸。如本文所使用的,术语“分离的核酸”指分离出的不含或以其它方式不含一个或多于一个细胞的总基因组和转录核酸的大部分的核酸分子(例如,RNA或DNA分子)。在某些实施方案中,“分离的核酸”指分离出的不含或以其它方式不含大部分细胞组分或体外反应组分的核酸,该组分例如为大分子,如脂质或蛋白质;小生物分子等。

#### [0149] 核酸互补体

[0150] 实施方案还包括与核酸互补的核酸。当核酸能够根据标准的Watson-Crick、

Hoogsteen或反向Hoogsteen结合互补规则与另一核酸碱基配对时,该核酸是“互补体”或与另一核酸“互补”。如本文所使用的,“另一核酸”可指单独的分子或同一分子的空间上分开的序列。在优选的实施方案中,互补体是用于检测核酸多态性的杂交探针或扩增引物。

[0151] 如本文所使用的,术语“互补”或“互补体”还指包含能够与另一条核酸链或双链体杂交的连续核碱基或半连续核碱基(例如,一个或多于一个核碱基部分不存在于分子中)的序列的核酸,即使并非所有的核碱基不与对应的核碱基配对。但是,在一些诊断或检测实施方案中,使用完全互补的核酸。

[0152] 核酸检测和评估

[0153] 基因分型可以使用Small等人(2002)中描述的方法进行,其通过引用并入本文。本领域技术人员应理解,其他标准技术可用于基因分型,并且任何技术都可以与本文所述的实施方案一起使用。下文提供了核酸检测的一般方法。

[0154] 在一些实施方案中,基因分型涉及从患者分离包含CYP2D6或 $\beta_1$ AR基因拷贝或其片段的核酸混合物,并确定一种或多于一种多态性的核苷酸序列。在一些实施方案中,这涉及基于由两个基因的拷贝产生的转录物来确定序列。其他多态性如单核苷酸多态性可以与本文所述位置处的多态性相关联并指示所述位置处的多态性。因此,在一些实施方案中,可以使用具有多态性的连锁不平衡(LED或LD)中的多态性来确定不同位置处的序列。

[0155] 本领域技术人员将容易认识到,核酸分子可以是双链分子,并且提及一条链上的特定位点也指互补链上的相应位点。因此,在定义多态性位点时,提及在核酸分子的一条链的特定位点处包含腺嘌呤、胸腺嘧啶(尿嘧啶)、胞嘧啶或鸟嘌呤的序列,也意图指在核酸分子互补链上相应位点处分别包含胸腺嘧啶(尿嘧啶)、腺嘌呤、鸟嘌呤或胞嘧啶。因此,可以提及任一条链并仍包含相同的多态性位点,并且寡核苷酸可以设计为与任一条链杂交。

[0156] 通常,使用例如Jones(1963)中公开的标准技术(其通过引用并入本文),从取自个体的生物样品例如血液样品或组织样品中分离核酸混合物。合适的组织样品包括全血、精液、唾液、眼泪、尿液、粪便、汗液、颊、皮肤和毛发。核酸混合物可以由基因组DNA组成。

[0157] 在实施方案中使用的基因分型方法中,多态性位点的识别可以通过直接从个体中存在的基因的一个或两个拷贝以及通过常规方法确定或直接评估的扩增区域的序列扩增包含多态性位点的靶区域来确定。

[0158] 可以使用任何寡核苷酸导向的扩增方法来扩增靶区域,该方法包括但不限于聚合酶链反应(PCR)(美国专利4965188)、连接酶链反应(LCR)(Barany等人,1991;W090/01069)、和寡核苷酸连接测定法(OLA)(Landegren等人,1988)。在此类方法中用作引物或探针的寡核苷酸应与包含或邻近多态性位点的核酸区域特异性杂交。通常,寡核苷酸的长度为10至35个核苷酸,优选15至30个核苷酸。最优选地,寡核苷酸的长度为20至25个核苷酸。寡核苷酸的确切长度将取决于许多因素,其通常由技术人员考虑和实践。

[0159] 其他已知的核酸扩增程序可用于扩增靶区域,包括基于转录的扩增系统(美国专利5130238;EP 329822;美国专利5169766;W089/06700)和等温方法(Walker等人,1992)。

[0160] 还可以使用本领域已知的几种基于杂交的方法中的一种在扩增之前或之后测定靶区域的多态性。通常,等位基因特异性寡核苷酸可用于进行此类方法。等位基因特异性寡核苷酸可用作不同标记的探针对,其中该对中的一个成员显示与靶序列的一个变体完全匹配,而另一成员显示与不同变体完全匹配。在一些实施方案中,可以使用一组等位基因特异

性寡核苷酸或寡核苷酸对一次检测到多于一个多态性位点。

[0161] 等位基因特异性寡核苷酸与靶多核苷酸的杂交可以在溶液中同时存在两个实体的情况下进行,或者可以当寡核苷酸或靶多核苷酸共价或非共价固定在固体载体上时进行这种杂交。连接可以例如通过抗体-抗原相互作用、聚-L-Lys、链霉亲和素或抗生物素蛋白-生物素、盐桥、疏水相互作用、化学键、UV交联烘烤等介导。等位基因特异性寡核苷酸可以直接在固体载体上合成,或在合成后附着在固体载体上。适用于本发明检测方法的固体载体包括由硅、玻璃、塑料、纸等制成的物质,其可以形成为例如孔(如在96孔板中)、载玻片、片、膜、纤维、碎屑、碟子和珠子。可以对固体载体进行处理、包被或衍生化以促进等位基因特异性寡核苷酸或靶核酸的固定。

[0162] 多态性的识别也可以使用错配检测技术来确定,该技术包括但不限于使用核糖核酸探针的RNA酶保护方法(Winter等人,1985;Meyers等人,1985)和识别核苷酸错配的蛋白质,例如大肠杆菌mutS蛋白(Modrich,1991)。或者,可以通过单链构象多态性(SSCP)分析(Orita等人,1989;Humphries等人,1996)或变性梯度凝胶电泳(DGGE)(Wartell等人,1990;Sheffield等人,1989)来识别变异的等位基因。

[0163] 聚合酶介导的引物延伸方法也可用于识别多态性。在专利和科学文献中已经描述了几种这样的方法。包含多态性的延伸引物可通过如美国专利第5605798号所述的质谱法来检测。另一种引物延伸方法是等位基因特异性PCR(Ruano等人,1989;Ruano等人,1991;W093/22456;Turki等人,1995)。

[0164] 基因的多态性变异也可以通过某些限制酶的DNA差异消化(Small等人,2002)或任何其他识别基因中多态性位置序列的方法来检测。

[0165] 在具体的实例中,来自生物样品组的生物样品的核酸的扩增和测序包括:固相PCR,其涉及用寡核苷酸衔接子在基底上桥式扩增生物样品的DNA片段,其中扩增涉及具有正向索引序列(例如,对应于MiSeq/NextSeq/HiSeq平台的Illumina正向索引)或反向索引序列(例如,对应于MiSeq/NextSeq/HiSeq平台的Illumina反向索引)的引物、正向条码序列或反向条码序列、转座酶序列(例如,对应于MiSeq/NextSeq/HiSeq平台的转座酶结合位点)、连接子(例如,零碱基、一个碱基或两个碱基的片段,其被配置用于降低同质性并改善序列结果)、额外的随机碱基、和用于靶向特定靶区域(例如16S区域、18S区域、ITS区域)的序列。如在整个公开中指出的,可以针对任何合适的扩增子进一步进行扩增和测序。在特定的实例中,测序包括使用合成测序技术的Illumina测序(例如,使用HiSeq平台、使用MiSeq平台、使用NextSeq平台等)。另外或替代地,可以使用任何其他合适的下一代测序技术(例如,PacBio平台、MinION平台、牛津纳米孔平台等)。另外或替代地,可以使用任何其他合适的测序平台或方法(例如,Roche 454Life Sciences平台、Life Technologies SOLiD平台等)。在实例中,测序可以包括深度测序以定量样品中特定序列的拷贝数,然后还可用于确定样品中不同序列的相对丰度。深度测序指核酸序列的高度冗余测序,例如从而使得可以确定或估计样品中序列的原始拷贝数。测序的冗余度(即深度)通过待测定的序列长度(X)、测序读取的数目(N)、和平均读取长度(L)确定。那么冗余度则为 $N \times L / X$ 。测序深度可以为或至少为约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、70、80、90、100、110、120、130、150、200、300、500、500、700、



1000、2000、3000、4000、5000或大于5000。

[0166] 测序

[0167] 本公开的各个方面可以包括对核酸进行测序以确定基因是否具有一种或多于一种多态性。已经使用了若干年的测序技术包括由Lynx Therapeutics于20世纪90年代开发的大规模平行签名测序(MPSS)、由哈佛大学的George M.Church于2005年开发的polony测序法、和由454Life Sciences(被Roche Diagnostics收购)于2006年开发的454焦磷酸测序。在一些实施方案中,这些技术被例如下文公开的那些新技术所取代。第一批下一代测序技术包括Illumina(Solexa)、SOLiD、离子洪流半导体、DNA纳米球、和Heliscope单分子测序方法。第三代测序技术包括单分子实时(SMRT)、纳米孔实时长读、以及Illumina和10X基因组学合成长读测序技术。

[0168] 如本文所使用的,术语“多态性”指给定核苷酸或氨基酸区域的核苷酸或氨基酸序列与同一物种另一个体的相应区域中的核苷酸或氨基酸序列相比的差异。优选地,该物种是人。通常相对于“参考”序列来定义多态性。在本申请中,“参考”序列和“野生型”序列可互换使用。核苷酸多态性包括单核苷酸差异、超过一个核苷酸的序列差异、以及单个或多个核苷酸的插入、倒位、置换和缺失。氨基酸多态性包括单个氨基酸差异、超过一个氨基酸的序列差异、以及单个或多个氨基酸的插入、置换和缺失。

[0169] “生物样品”涵盖了从个体获得的多种样品类型,并且可用于诊断或监测分析。该定义包括血液和生物来源的其他液体样品、固体组织样品例如活检标本或组织培养物或由其衍生的细胞及其后代。该定义还包括在获得后以任何方式处理过的样品,例如用试剂处理、增溶或富集某些成分如多核苷酸的样品。术语生物样品包括临床样品,并且还包括培养中的细胞、细胞上清液、细胞裂解物、血清、血浆、生物流体和组织样品。在一个实施方案中,样品从个体收集。例如,个体可以从脸颊内部收集组织拭子以用作核酸样品。如本领域已知的,许多类型的样品可以用于核酸提取。

[0170] 如本文所使用的,术语“治疗”指疾病或病症的严重性降低或与特定疾病或病症有关的一种或多于一种症状的消除。因此,治疗病症不一定意味着与病症有关的所有症状的严重性都降低,也不一定意味着与病症有关的一种或多于一种症状的严重性完全降低。如本文中使用的治疗包括任何症状性病症的治疗,例如哺乳动物,特别是人类中的不良反应的治疗,并且包括:(a) 诊断并防止不良反应在个体中出现,该个体可以预先有产生不良反应的倾向,但尚未被诊断为具有不良反应;(b) 抑制不良反应,即阻止其发展;和(c) 减轻不良反应,即引起反应消退。

[0171] 术语“治疗有效量”指有效治疗特定疾病的量;即有效降低与寻求治疗的特定疾病或病症有关的一种或多于一种症状的严重性的量。在例如改善特定病症中使用的术语“改善”指疾病的一种或多于一种症状即使不是变好,也至少更可忍受。术语改善并不一定意味着对与病症有关的所有症状的忍耐度都增加,也不一定意味着与病症有关的一种或多于一种症状的严重性完全减轻。

[0172] 在另一个实施方案中,增加了另一步骤,其中在鉴定步骤之前扩增基因的一部分。在另一个实施方案中,通过选自杂交测定、测序测定、微测序测定、MALDI-TOF测定、和等位基因特异性扩增测定的方法进行鉴定。在另一个实施方案中,通过基于抗体的测定进行鉴定。

[0173] 药物基因组学允许临床医生或内科医师将预防性或治疗性疗法靶向于最受益于该疗法的个体,并避免治疗会出现症状性副作用的个体。通过改变药理活性药物的剂量与血液浓度之间的关系,治疗剂的代谢差异会导致严重的毒性或治疗失败。因此,内科医师或临床医生可考虑应用相关药物基因组学研究中获得的知识来确定是否施用布新洛尔以及调整待施用的剂量、方案和/或治疗有效量,从而获得由调节剂治疗所带来的期望疗效。

[0174] 本发明包括了以下实施方案:

[0175] 1.一种治疗心房颤动、预防心房颤动、延缓心房颤动发作或降低心房颤动风险的方法,所述方法包括向患者施用有效量的布新洛尔,其中所述患者:

[0176] (a) 已被测试并被发现左心室射血分数为至少0.40;和

[0177] (b) 已被基因分型并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0178] 2.根据实施方案1所述的方法,其中所述心房颤动是新发性心房颤动。

[0179] 3.根据实施方案1或2所述的方法,其中所述心房颤动是复发性心房颤动。

[0180] 4.根据实施方案1至3中任一项所述的方法,其中所述患者已被测试并被发现左心室射血分数为至少0.45、至少0.50、至少0.55或至少0.60。

[0181] 5.根据实施方案1至4中任一项所述的方法,其中在施用前少于12个月进行对于左心室射血分数的测试。

[0182] 6.根据实施方案1至5中任一项所述的方法,其中所述患者还被诊断患有心力衰竭。

[0183] 7.根据实施方案6所述的方法,其中所述患者在施用前少于12年被最初诊断患有心力衰竭。

[0184] 8.根据实施方案1至7中任一项所述的方法,其中所述患者还被诊断患有心房颤动。

[0185] 9.根据实施方案8所述的方法,其中所述患者在施用前少于12年被最初诊断患有心房颤动。

[0186] 10.根据实施方案8或9所述的方法,其中所述患者在被最初诊断患有心力衰竭之前或之后少于2年被最初诊断患有心房颤动。

[0187] 11.根据实施方案1至10中任一项所述的方法,其中所述患者还被测试并被发现在施用时或在施用前不超过1天处于窦性心律。

[0188] 12.根据实施方案1至11中任一项所述的方法,其中所述患者每天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。

[0189] 13.根据实施方案1至12中任一项所述的方法,其中所述患者每天被施用约0.15mg/kg至5mg/kg的布新洛尔。

[0190] 14.一种治疗患者的心房颤动、预防患者的心房颤动或延缓患者的心房颤动发作的方法,所述方法包括:

[0191] (a) 获得显示患者的左心室射血分数为至少0.40的测试结果;和

[0192] (b) 在步骤(a)之后,向患者施用有效量的布新洛尔。

[0193] 15.根据实施方案14所述的方法,其中在步骤(b)的施用之前,所述患者还被基因分型并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0194] 16.一种治疗心房颤动、预防心房颤动或延缓心房颤动发作的方法,所述方法包括

在确定患者：

[0195] (a) 左心室射血分数为至少0.40；和

[0196] (b) 对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的之后向所述患者施用有效量的布新洛尔。

[0197] 17. 一种治疗心力衰竭的方法，所述方法包括向患者施用有效量的布新洛尔，其中所述患者：

[0198] (a) 已被测试并被发现左心室射血分数为至少0.40；和

[0199] (b) 已被基因分型并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0200] 18. 根据实施方案17所述的方法，其中所述患者在施用前少于12年还被最初诊断患有心力衰竭。

[0201] 19. 根据实施方案17或18所述的方法，其中所述患者在施用前少于12年和在被最初诊断患有心力衰竭之前或之后少于2年还被最初诊断患有心房颤动。

[0202] 20. 一种治疗心房扑动、预防心房扑动或延缓复发性心房扑动或新发性心房扑动的发作的方法，所述方法包括向患者施用有效量的布新洛尔，其中所述患者：

[0203] (a) 已被测试并被发现左心室射血分数为至少0.40；和

[0204] (b) 已被基因分型并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0205] 21. 根据实施方案20所述的方法，其中所述患者在施用前少于12年还被最初诊断患有心力衰竭。

[0206] 22. 根据实施方案20或21所述的方法，其中所述患者在施用前少于12年和在被最初诊断患有心力衰竭之前或之后少于2年还被最初诊断患有心房颤动。

[0207] 23. 一种治疗心律失常、预防心律失常或延缓复发性心律失常或新发性心律失常的发作的方法，所述方法包括向患者施用有效量的布新洛尔，其中所述患者：

[0208] (a) 已被测试并被发现左心室射血分数为至少0.40；和

[0209] (b) 已被基因分型并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0210] 24. 根据实施方案23所述的方法，其中所述患者在施用前少于12年还被最初诊断患有心力衰竭。

[0211] 25. 根据实施方案23或24所述的方法，其中所述患者在施用前少于12年和在被最初诊断患有心力衰竭之前或之后少于2年还被最初诊断患有心房颤动。

[0212] 26. 一种维持正常窦性心律的方法，所述方法包括向患者施用有效量的布新洛尔，其中所述患者：

[0213] (a) 已被测试并被发现左心室射血分数为至少0.40；和

[0214] (b) 已被基因分型并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0215] 27. 一种维持正常窦性心律的方法，所述方法包括向患者施用有效量的布新洛尔，其中所述患者：

[0216] (a) 已被诊断患有心力衰竭；

[0217] (b) 已被诊断患有症状性心房颤动或心房扑动；

[0218] (c) 已被测试并被发现左心室射血分数为大于或等于0.40且小于0.50；

[0219] (d) 在施用时处于窦性心律；和

[0220] (e) 已被基因分型并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0221] 28. 一种治疗心脏病、预防心脏病、延缓心脏病发作或降低心脏病风险的方法，所

述方法包括向患者施用有效量的布新洛尔,其中所述患者:

[0222] (a) 已被诊断患有心力衰竭;

[0223] (b) 已被测试并被发现左心室射血分数为至少0.40;和

[0224] (c) 已被基因分型并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0225] 29. 根据实施方案28所述的方法,其中所述心脏病是心力衰竭或新发性、复发性或持续性心房颤动、心房扑动、心动过速或心律失常。

[0226] 30. 根据实施方案28或29所述的方法,其中所述患者已被测试并被发现左心室射血分数为至少0.45、至少0.50、至少0.55或至少0.60。

[0227] 31. 根据实施方案28至30中任一项所述的方法,其中所述患者在施用前少于12年被最初诊断患有心力衰竭。

[0228] 32. 根据实施方案28至31中任一项所述的方法,其中所述患者在施用前少于12年最初发展为心力衰竭。

[0229] 33. 根据实施方案28至32中任一项所述的方法,其中在施用前少于12个月进行对于左心室射血分数的测试。

[0230] 34. 根据实施方案28至33中任一项所述的方法,其中所述患者还被诊断患有心房颤动。

[0231] 35. 根据实施方案34所述的方法,其中所述患者在施用前少于12年被最初诊断患有心房颤动。

[0232] 36. 根据实施方案34或35所述的方法,其中所述患者在被最初诊断患有心力衰竭之前或之后少于2年被最初诊断患有心房颤动。

[0233] 37. 根据实施方案34至36中任一项所述的方法,其中所述患者在施用前少于12年最初发展为心房颤动。

[0234] 38. 根据实施方案28至37中任一项所述的方法,其中所述患者在施用时处于窦性心律。

[0235] 39. 根据实施方案28至38中任一项所述的方法,其中所述患者每天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。

[0236] 40. 根据实施方案28至39中任一项所述的方法,其中所述患者每天被施用约0.15mg/kg至5mg/kg的布新洛尔。

[0237] 41. 一种治疗心脏病、预防心脏病、延缓心脏病发作或降低心脏病风险的方法,所述方法包括在确定患者:

[0238] (a) 具有心力衰竭;

[0239] (b) 左心室射血分数为至少0.40;和

[0240] (c) 已被基因分型并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的之后向所述患者施用有效量的布新洛尔。

[0241] 42. 一种治疗患者的心脏病、预防患者的心脏病、延缓患者的心脏病发作或降低患者的心脏病风险的方法,所述方法包括:

[0242] (a) 获得显示患者具有左心室射血分数为至少0.40的心力衰竭的测试结果;和

[0243] (b) 在步骤(a)之后,向患者施用有效量的布新洛尔。

[0244] 43. 根据实施方案42所述的方法,其还包括在步骤(b)的施用之前获得显示患者对

于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的测试结果。

[0245] 44. 一种治疗心脏病、预防心脏病、延缓心脏病发作或降低心脏病风险的方法,所述方法包括向患者施用有效量的布新洛尔,其中所述患者已被测试并被发现左心室射血分数为至少0.40。

[0246] 45. 根据实施方案44所述的方法,其中所述心脏病是心力衰竭或新发性、复发性或持续性心房颤动、心房扑动、心动过速或心律失常。

[0247] 46. 根据实施方案44或45所述的方法,其中所述患者还被基因分型并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0248] 47. 根据实施方案44至46中任一项所述的方法,其中所述患者还被诊断患有心力衰竭。

[0249] 48. 根据实施方案44至47中任一项所述的方法,其中所述患者还被诊断患有心房颤动。

[0250] 49. 根据实施方案48所述的方法,其中所述患者在被最初诊断患有心力衰竭之前或之后少于2年被最初诊断患有心房颤动。

[0251] 50. 根据实施方案48或49所述的方法,其中所述患者在施用前少于12年被最初诊断患有心房颤动,且在施用前少于12年被最初诊断患有心力衰竭。

[0252] 51. 一种预防患者的心房颤动或延缓患者的心房颤动的发作的方法,所述方法包括向患者施用有效量的布新洛尔,其中所述患者:

[0253] (a) 在施用前少于12年已被最初诊断患有心力衰竭;

[0254] (b) 在施用前少于12年已被最初诊断患有心房颤动;

[0255] (c) 在施用前的12个月内已被测试并被发现左心室射血分数小于0.50;和

[0256] (d) 已被基因分型并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0257] 52. 根据实施方案51所述的方法,其中所述左心室射血分数等于或大于0.40且小于0.50。

[0258] 53. 根据实施方案51或52所述的方法,其中所述患者在被最初诊断患有心力衰竭之前少于2年被最初诊断患有心房颤动。

[0259] 54. 根据实施方案53所述的方法,其中所述患者在被诊断患有心力衰竭之前被诊断患有心房颤动。

[0260] 55. 根据实施方案51至54中任一项所述的方法,其中所述患者在施用时处于窦性心律。

[0261] 56. 根据实施方案51至55中任一项所述的方法,其中在施用之前,所述患者还被诊断为具有持续性心房颤动或阵发性心房颤动的症状或具有持续性心房颤动或阵发性心房颤动的症状。

[0262] 57. 根据实施方案56所述的方法,其中通过心电图、心电图贴片、经电话传输监护仪或植入装置来记录心房颤动。

[0263] 58. 根据实施方案56或57所述的方法,其中所述心房颤动引起新的症状或恶化的症状。

[0264] 59. 根据实施方案51至58中任一项所述的方法,其中心力衰竭诊断基于以下标志或症状中的一种或多种:呼吸急促、易疲劳性、阵发性夜间呼吸困难、端坐呼吸和容量

超负荷。

[0265] 60. 根据实施方案51至59中任一项所述的方法,其中所述患者还被测试并被发现具有以下中的至少一项:

[0266] (a) B型利尿钠肽的血液浓度为至少100pg/ml;

[0267] (b) N末端B型利尿钠肽前体的血液浓度为至少125pg/ml,其中所述患者为75岁或小于75岁;或

[0268] (c) N末端B型利尿钠肽前体的血液浓度为至少400pg/ml,其中所述患者大于75岁;

[0269] 或其中所述患者已因心力衰竭而住院。

[0270] 61. 根据实施方案60所述的方法,其中B型利尿钠肽的血液浓度为至少490pg/ml或N末端B型利尿钠肽前体的血液浓度为至少3460pg/ml,并且其中所述患者为任意年龄。

[0271] 62. 根据实施方案60或61所述的方法,其中患者目前未服用沙库巴曲和缬沙坦的组合,或在患者中测试B型利尿钠肽或N末端B型利尿钠肽前体的血液浓度时的1个月内,患者未曾服用沙库巴曲和缬沙坦的组合。

[0272] 63. 根据实施方案51至62中任一项所述的方法,其中在施用,所述患者的静息心率低于120bpm。

[0273] 64. 根据实施方案51至63中任一项所述的方法,其中在施用,所述患者的收缩压为90mmHg至150mmHg。

[0274] 65. 根据实施方案51至64中任一项所述的方法,其还包括进行心脏电复律以使所述患者在施用之前具有窦性心律。

[0275] 66. 根据实施方案51至65中任一项所述的方法,其中所述患者正在服用规定的抗凝剂。

[0276] 67. 根据实施方案51至66中任一项所述的方法,其中所述患者每天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。

[0277] 68. 根据实施方案51至67中任一项所述的方法,其中所述患者每天被施用约0.15mg/kg至5mg/kg的布新洛尔。

[0278] 69. 一种治疗患者的心脏病、预防患者的心脏病、延缓患者的心脏病发作或降低患者的心脏病风险的方法,所述方法包括向患者施用有效量的布新洛尔,其中所述患者:

[0279] (a) 在施用前少于12年已被最初诊断患有心力衰竭;

[0280] (b) 在施用前少于12年和在被诊断患有心力衰竭前少于2年已被最初诊断患有心房颤动;

[0281] (c) 已被测试并被发现左心室射血分数为等于或大于0.40且小于0.50;

[0282] (d) 处于窦性心律;和

[0283] (e) 已被基因分型并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0284] 70. 根据实施方案69所述的方法,其中所述心脏病是心力衰竭或新发性、复发性心房颤动、心房扑动、心动过速或心律失常。

[0285] 71. 一种治疗患者的心脏病、预防患者的心脏病、延缓患者的心脏病发作或降低患者的心脏病风险的方法,所述方法包括在确定患者:

[0286] (a) 在施用前少于12年被最初诊断患有心力衰竭;

[0287] (b) 在施用前少于12年和在被诊断患有心力衰竭前少于2年被最初诊断患有症状

性心房颤动；

[0288] (c) 在施用前12个月内左心室射血分数为等于或大于0.40且小于0.50；

[0289] (d) 处于窦性心律；和

[0290] (e) 对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的之后向所述患者施用有效量的布新洛尔。

[0291] 72. 根据实施方案71所述的方法，其中所述心脏病是心力衰竭或新发性、复发性心房颤动、心房扑动、心动过速或心律失常。

[0292] 73. 一种治疗患者的心脏病、预防患者的心脏病、延缓患者的心脏病发作或降低患者的心脏病风险的方法，所述方法包括向患者施用有效量的布新洛尔，其中所述患者：

[0293] (a) 在施用前少于12年已被最初诊断患有心力衰竭；

[0294] (b) 在施用前少于12年和在被诊断患有心力衰竭前少于2年被最初诊断患有心房颤动；

[0295] (c) 已被测试并被发现左心室射血分数为等于或大于0.40、0.45或0.50；

[0296] (d) 处于窦性心律；和

[0297] (e) 已被基因分型并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0298] 74. 根据实施方案71所述的方法，其中所述心脏病是心力衰竭、心房颤动、心房扑动、复发性心房颤动、复发性心房扑动或新发性心房扑动。

[0299] 75. 一种降低患者发展心房颤动的风险的方法，所述方法包括向患者施用有效量的布新洛尔，其中所述患者：

[0300] (a) 已被测试并被发现左心室射血分数为至少0.40；和

[0301] (b) 已被基因分型并被发现对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0302] 76. 一种用布新洛尔治疗心力衰竭中的心房颤动的方法，所述方法包括向患者施用包含布新洛尔的组合物，其中在施用包含布新洛尔的组合物前，对于至少一个等位基因中的至少一种CYP2D6多态性，所述患者已被基因分型，其中所述患者也已被测试并确定为对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0303] 77. 根据实施方案76所述的方法，其中所述患者已被或目前被诊断具有心房颤动的症状或具有心房颤动的症状。

[0304] 78. 根据实施方案77所述的方法，其中所述患者在被施用布新洛尔之前或在被诊断患有心力衰竭之前不超过30天已被诊断患有心房颤动。

[0305] 79. 根据实施方案76所述的方法，其中所述患者具有降低的LVEF，其中所述LVEF为0.40或低于0.40或为0.41至0.49。

[0306] 80. 根据实施方案76至79中任一项所述的方法，其中对于两个CYP2D6等位基因，已将所述患者基因分型。

[0307] 81. 根据实施方案76至79中任一项所述的方法，其中对于以下CYP2D6基因型：\*1、\*2、\*3、\*4、\*5、\*6、\*7、\*8、\*9、\*10、\*11、\*15、\*17、\*29、\*35或\*41中的一种或多于一种，已将所述患者基因分型。

[0308] 82. 根据实施方案81所述的方法，其中对于以下CYP2D6基因型：\*1、\*2、\*3、\*4、\*5、\*6、\*7、\*8、\*9、\*10、\*11、\*15、\*17、\*29、\*35或\*41中的五种或多于五种，已将所述患者基因分型。

[0309] 83. 根据实施方案82所述的方法，其中对于以下CYP2D6基因型：\*1、\*2、\*3、\*4、\*5、\*

6、\*7、\*8、\*9、\*10、\*11、\*15、\*17、\*29、\*35或\*41中的全部,已将所述患者基因分型。

[0310] 84.根据实施方案76至83中任一项所述的方法,其中对于CYP2D6重复基因将所述患者基因分型。

[0311] 85.根据实施方案76至84中任一项所述的方法,其中基于CYP2D6基因分型确定所述患者为强代谢者。

[0312] 86.根据实施方案85所述的方法,其中所述患者一天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。

[0313] 87.根据实施方案85或86所述的方法,其中所述患者每天被施用约0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。

[0314] 88.根据实施方案76至84中任一项所述的方法,其中基于CYP2D6基因分型确定所述患者为超快代谢者。

[0315] 89.根据实施方案88所述的方法,其中所述患者一天被施用约12.5mg至200mg或多于200mg的布新洛尔。

[0316] 90.根据实施方案88或89所述的方法,其中所述患者每天被施用约0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。

[0317] 91.根据实施方案76至84中任一项所述的方法,其中基于CYP2D6基因分型确定所述患者为中等代谢者。

[0318] 92.根据实施方案91所述的方法,其中所述患者一天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。

[0319] 93.根据实施方案91或92所述的方法,其中所述患者每天被施用约0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。

[0320] 94.根据实施方案91或92所述的方法,其中以mg/天或mg/kg/天为基准,向所述患者施用的布新洛尔剂量小于向超快代谢者或强代谢者施用的剂量。

[0321] 95.根据实施方案76至84中任一项所述的方法,其中基于CYP2D6基因分型确定所述患者为弱代谢者。

[0322] 96.根据实施方案95所述的方法,其中所述患者一天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。

[0323] 97.根据实施方案95或96所述的方法,其中所述患者每天被施用约0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。

[0324] 98.根据实施方案95或96所述的方法,其中以mg/天或mg/kg/天为基准,向所述患者施用的布新洛尔剂量小于向超快代谢者或强代谢者或中等代谢者施用的剂量。

[0325] 99.根据实施方案76至88中任一项所述的方法,其中所述患者已被基因分型为在一个或两个CYP2D6等位基因中不具有以下CYP2D6基因型中的任一个:\*2、\*3、\*4、\*5、\*6、\*7、\*8、\*9、\*10、\*11、\*15、\*17、\*29、\*35和\*41。

[0326] 100.根据实施方案76至88中任一项所述的方法,其中对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*1,已将所述患者基因分型。

[0327] 101.根据实施方案99或100所述的方法,其中对于CYP2D6重复基因,已将所述患者基因分型。

[0328] 102.根据实施方案100或101所述的方法,其中基于一个或两个CYP2D6等位基因



和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*1,所述患者被确定为强代谢者。

[0329] 103.根据实施方案100或101所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和CYP2D6重复基因中的基因型\*1,所述患者被确定为超快代谢者。

[0330] 104.根据实施方案102或103所述的方法,其中所述患者一天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。

[0331] 105.根据实施方案102或103所述的方法,其中所述患者每天被施用约0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。

[0332] 106.根据实施方案76至88中任一项所述的方法,其中对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*2,已将所述患者基因分型。

[0333] 107.根据实施方案106所述的方法,其中对于CYP2D6重复基因,已将所述患者基因分型。

[0334] 108.根据实施方案106或107所述的方法,其中基于一个或两个CYP2D6等位基因和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*2,所述患者被确定为强代谢者。

[0335] 109.根据实施方案106或107所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和CYP2D6重复基因中的基因型\*2,所述患者被确定为超快代谢者。

[0336] 110.根据实施方案108或109所述的方法,其中所述患者一天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。

[0337] 111.根据实施方案108或109所述的方法,其中所述患者每天被施用约0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。

[0338] 112.根据实施方案76至88中任一项所述的方法,其中对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*35,已将所述患者基因分型。

[0339] 113.根据实施方案112所述的方法,其中对于CYP2D6重复基因,已将所述患者基因分型。

[0340] 114.根据实施方案112或113所述的方法,其中基于一个或两个CYP2D6等位基因和/或CYP2D6重复基因中的基因型\*35,所述患者被确定为强代谢者。

[0341] 115.根据实施方案112或113所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和CYP2D6重复基因中的基因型\*35,所述患者被确定为超快代谢者。

[0342] 116.根据实施方案114或115所述的方法,其中所述患者一天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。

[0343] 117.根据实施方案114或115所述的方法,其中所述患者每天被施用1.5mg/kg或更多于1.5mg/kg的布新洛尔。

[0344] 118.根据实施方案76至88中任一项所述的方法,其中对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*9,已将所述患者基因分型。

[0345] 119.根据实施方案118所述的方法,其中对于CYP2D6重复基因,已将所述患者基因分型。

[0346] 120.根据实施方案118或119所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和CYP2D6重复基因中的基因型\*9,所述患者被确定为强代谢者/中等代谢者。

[0347] 121.根据实施方案118或119所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*9,所述患者被确定为中等代谢者。

- [0348] 122. 根据实施方案120或121所述的方法,其中所述患者一天被施用药12.5mg至200mg的布新洛尔。
- [0349] 123. 根据实施方案120或121所述的方法,其中所述患者每天被施用药0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。
- [0350] 124. 根据实施方案76至88中任一项所述的方法,其中对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*10,已将所述患者基因分型。
- [0351] 125. 根据实施方案124所述的方法,其中对于CYP2D6重复基因,已将所述患者基因分型。
- [0352] 126. 根据实施方案124或125所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和CYP2D6重复基因中的基因型\*10,所述患者被确定为强代谢者/中等代谢者。
- [0353] 127. 根据实施方案124或125所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*10,所述患者被确定为中等代谢者。
- [0354] 128. 根据实施方案126或127所述的方法,其中所述患者一天被施用药12.5mg至200mg的布新洛尔。
- [0355] 129. 根据实施方案126或127所述的方法,其中所述患者每天被施用药0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。
- [0356] 130. 根据实施方案76至88中任一项所述的方法,其中对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*17,已将所述患者基因分型。
- [0357] 131. 根据实施方案130所述的方法,其中对于CYP2D6重复基因,已将所述患者基因分型。
- [0358] 132. 根据实施方案130或131所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和CYP2D6重复基因中的基因型\*17,所述患者被确定为强代谢者/中等代谢者。
- [0359] 133. 根据实施方案130或131所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*17,所述患者被确定为中等代谢者。
- [0360] 134. 根据实施方案132或133所述的方法,其中所述患者一天被施用药12.5mg至200mg的布新洛尔。
- [0361] 135. 根据实施方案132或133所述的方法,其中所述患者每天被施用药0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。
- [0362] 136. 根据实施方案76至88中任一项所述的方法,其中对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*29,已将所述患者基因分型。
- [0363] 137. 根据实施方案136所述的方法,其中对于CYP2D6重复基因,已将所述患者基因分型。
- [0364] 138. 根据实施方案136或137所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和CYP2D6重复基因中的基因型\*29,所述患者被确定为强代谢者/中等代谢者。
- [0365] 139. 根据实施方案136或137所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*29,所述患者被确定为中等代谢者。
- [0366] 140. 根据实施方案138或139所述的方法,其中所述患者一天被施用药12.5mg至200mg的布新洛尔。
- [0367] 141. 根据实施方案138或139所述的方法,其中所述患者每天被施用药0.15mg/kg

至2.5mg/kg的布新洛尔。

[0368] 142. 根据实施方案76至88中任一项所述的方法,其中对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*41,已将所述患者基因分型。

[0369] 143. 根据实施方案142所述的方法,其中对于CYP2D6重复基因,已将所述患者基因分型。

[0370] 144. 根据实施方案142或143所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和CYP2D6重复基因中的基因型\*41,所述患者被确定为强代谢者/中等代谢者。

[0371] 145. 根据实施方案142或143所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*41,所述患者被确定为中等代谢者。

[0372] 146. 根据实施方案144或145所述的方法,其中所述患者一天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。

[0373] 147. 根据实施方案144或145所述的方法,其中所述患者每天被施用约0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。

[0374] 148. 根据实施方案76至88中任一项所述的方法,其中对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*3,已将所述患者基因分型。

[0375] 149. 根据实施方案148所述的方法,其中对于CYP2D6重复基因,已将所述患者基因分型。

[0376] 150. 根据实施方案148或149所述的方法,其中基于一个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*3,所述患者被确定为中等代谢者。

[0377] 151. 根据实施方案148或149所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*3,所述患者被确定为弱代谢者。

[0378] 152. 根据实施方案148或149所述的方法,其中所述患者一天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。

[0379] 153. 根据实施方案148或149所述的方法,其中所述患者每天被施用0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。

[0380] 154. 根据实施方案76至88中任一项所述的方法,其中对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*4,已将所述患者基因分型。

[0381] 155. 根据实施方案154所述的方法,其中对于CYP2D6重复基因,已将所述患者基因分型。

[0382] 156. 根据实施方案154或155所述的方法,其中基于一个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*4,所述患者被确定为中等代谢者。

[0383] 157. 根据实施方案154或155所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*4,所述患者被确定为弱代谢者。

[0384] 158. 根据实施方案156或157所述的方法,其中所述患者一天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。

[0385] 159. 根据实施方案156或157所述的方法,其中所述患者每天被施用约0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。

[0386] 160. 根据实施方案76至88中任一项所述的方法,其中对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*5,已将所述患者基因分型。

- [0387] 161. 根据实施方案160所述的方法,其中对于CYP2D6重复基因,已将所述患者基因分型。
- [0388] 162. 根据实施方案160或161所述的方法,其中基于一个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*5,所述患者被确定为中等代谢者。
- [0389] 163. 根据实施方案160或161所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*5,所述患者被确定为弱代谢者。
- [0390] 164. 根据实施方案162或163所述的方法,其中所述患者一天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。
- [0391] 165. 根据实施方案162或163所述的方法,其中所述患者每天被施用约0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。
- [0392] 166. 根据实施方案76至88中任一项所述的方法,其中对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*6,已将所述患者基因分型。
- [0393] 167. 根据实施方案166所述的方法,其中对于CYP2D6重复基因,已将所述患者基因分型。
- [0394] 168. 根据实施方案166或167所述的方法,其中基于一个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*6,所述患者被确定为中等代谢者。
- [0395] 169. 根据实施方案166或167所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*6,所述患者被确定为弱代谢者。
- [0396] 170. 根据实施方案168或169所述的方法,其中所述患者一天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。
- [0397] 171. 根据实施方案168或169所述的方法,其中所述患者每天被施用约0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。
- [0398] 172. 根据实施方案76至88中任一项所述的方法,其中对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*7,已将所述患者基因分型。
- [0399] 173. 根据实施方案172所述的方法,其中对于CYP2D6重复基因,已将所述患者基因分型。
- [0400] 174. 根据实施方案172或173所述的方法,其中基于一个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*7,所述患者被确定为中等代谢者。
- [0401] 175. 根据实施方案172或173所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*7,所述患者被确定为弱代谢者。
- [0402] 176. 根据实施方案174或175所述的方法,其中所述患者一天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。
- [0403] 177. 根据实施方案174或175所述的方法,其中所述患者每天被施用约0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。
- [0404] 178. 根据实施方案76至88中任一项所述的方法,其中对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*8,已将所述患者基因分型。
- [0405] 179. 根据实施方案178所述的方法,其中对于CYP2D6重复基因,已将所述患者基因分型。
- [0406] 180. 根据实施方案178或179所述的方法,其中基于一个CYP2D6等位基因和任选的

CYP2D6重复基因中的基因型\*8,所述患者被确定为中等代谢者。

[0407] 181.根据实施方案178或179所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*8,所述患者被确定为弱代谢者。

[0408] 182.根据实施方案180或181所述的方法,其中所述患者一天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。

[0409] 183.根据实施方案180或181所述的方法,其中所述患者每天被施用约0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。

[0410] 184.根据实施方案76至88中任一项所述的方法,其中对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*11,已将所述患者基因分型。

[0411] 185.根据实施方案184所述的方法,其中对于CYP2D6重复基因,已将所述患者基因分型。

[0412] 186.根据实施方案184或185所述的方法,其中基于一个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*11,所述患者被确定为中等代谢者。

[0413] 187.根据实施方案184或185所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*11,所述患者被确定为弱代谢者。

[0414] 188.根据实施方案186或187所述的方法,其中所述患者一天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。

[0415] 189.根据实施方案186或187所述的方法,其中所述患者每天被施用约0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。

[0416] 190.根据实施方案76至88中任一项所述的方法,其中对于CYP2D6的一个或两个等位基因中的\*15,已将所述患者基因分型。

[0417] 191.根据实施方案190所述的方法,其中对于CYP2D6重复基因,已将所述患者基因分型。

[0418] 192.根据实施方案190或191所述的方法,其中基于一个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*11,所述患者被确定为中等代谢者。

[0419] 193.根据实施方案190或191所述的方法,其中基于两个CYP2D6等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的基因型\*11,所述患者被确定为弱代谢者。

[0420] 194.根据实施方案192或193所述的方法,其中所述患者一天被施用约12.5mg至200mg的布新洛尔。

[0421] 195.根据实施方案192或193所述的方法,其中所述患者每天被施用约0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。

[0422] 196.根据实施方案76至195中任一项所述的方法,其中基因分型包括测序、核酸扩增、杂交和/或转录,或其组合。

[0423] 197.根据实施方案76至196中任一项所述的方法,其中所述组合物包含S-布新洛尔与R-布新洛尔的重量比为至少99:1的布新洛尔。

[0424] 198.一种用布新洛尔治疗心力衰竭中的心房颤动的方法,所述方法包括向患者施用包含布新洛尔的组合物,其中在施用包含布新洛尔的组合物前,对于两个CYP2D6等位基因中的多种多态性,所述患者已被基因分型,其中所述患者还被测试并确定为对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的,并且CYP2D6中的多种多态性包括基因型\*1、\*2、\*3、\*4、\*5、\*6、\*7、\*

8、\*9、\*10、\*11、\*15、\*17、\*29、\*35和\*41。

[0425] 199. 一种确定用于治疗患者的心力衰竭伴心房颤动的布新洛尔的剂量的方法, 所述方法包括在对于CYP2D6基因的一个或两个等位基因和任选的CYP2D6重复基因中的一种或多种多态性将患者基因分型后, 向所述患者施用包含布新洛尔的组合物, 其中所述患者还被测试并确定为对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0426] 200. 根据实施方案199所述的方法, 其中对于两个CYP2D6等位基因, 已将所述患者基因分型。

[0427] 201. 根据实施方案199所述的方法, 其中对于以下CYP2D6基因型:\*1、\*2、\*3、\*4、\*5、\*6、\*7、\*8、\*9、\*10、\*11、\*15、\*17、\*29、\*35或\*41中的一种或多种, 已将所述患者基因分型。

[0428] 202. 根据实施方案201所述的方法, 其中对于以下CYP2D6基因型:\*1、\*2、\*3、\*4、\*5、\*6、\*7、\*8、\*9、\*10、\*11、\*15、\*17、\*29、\*35或\*41中的五种或多种, 已将所述患者基因分型。

[0429] 203. 根据实施方案202所述的方法, 其中对于以下CYP2D6基因型:\*1、\*2、\*3、\*4、\*5、\*6、\*7、\*8、\*9、\*10、\*11、\*15、\*17、\*29、\*35或\*41中的全部, 已将所述患者基因分型。

[0430] 204. 根据实施方案199至203中任一项所述的方法, 其中对于CYP2D6重复基因将所述患者基因分型。

[0431] 205. 根据实施方案199至204中任一项所述的方法, 其中基于CYP2D6基因分型确定所述患者为强代谢者。

[0432] 206. 根据实施方案205所述的方法, 其中所述患者一天被施用药约12.5mg至200mg的布新洛尔。

[0433] 207. 根据实施方案205或206所述的方法, 其中所述患者每天被施用药约0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。

[0434] 208. 根据实施方案199至204中任一项所述的方法, 其中基于CYP2D6基因分型确定所述患者为超快代谢者。

[0435] 209. 根据实施方案208所述的方法, 其中所述患者一天被施用药约12.5mg至200mg或更多于200mg的布新洛尔。

[0436] 210. 根据实施方案208或209所述的方法, 其中所述患者每天被施用药约0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。

[0437] 211. 根据实施方案199至204中任一项所述的方法, 其中基于CYP2D6基因分型确定所述患者为中等代谢者。

[0438] 212. 根据实施方案211所述的方法, 其中所述患者一天被施用药约12.5mg至200mg的布新洛尔。

[0439] 213. 根据实施方案211或212所述的方法, 其中所述患者每天被施用药约0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。

[0440] 214. 根据实施方案211或212所述的方法, 其中以mg/天或mg/kg/天为基准, 向所述患者施用的布新洛尔剂量小于向超快代谢者或强代谢者施用的剂量。

[0441] 215. 根据实施方案199至204中任一项所述的方法, 其中基于CYP2D6基因分型确定所述患者为弱代谢者。

[0442] 216. 根据实施方案215所述的方法,其中所述患者一天被施用药12.5mg至200mg的布新洛尔。

[0443] 217. 根据实施方案215或216所述的方法,其中所述患者每天被施用药0.15mg/kg至2.5mg/kg的布新洛尔。

[0444] 218. 根据实施方案215或216所述的方法,其中以mg/天或mg/kg/天为基准,向所述患者施用的布新洛尔剂量小于向超快代谢者或强代谢者或中等代谢者施用的剂量。

[0445] 219. 根据实施方案199至208中任一项所述的方法,其中所述患者已被基因分型为在一个或两个CYP2D6等位基因中不具有以下CYP2D6基因型:\*2、\*3、\*4、\*5、\*6、\*7、\*8、\*9、\*10、\*11、\*15、\*17、\*29、\*35和\*41。

[0446] 220. 根据实施方案199中219中任一项所述的方法,其中所述患者已被诊断为具有心房颤动的症状或具有心房颤动的症状。

[0447] 221. 根据实施方案220所述的方法,其中所述患者在被施用布新洛尔之前或在被诊断患有心力衰竭之前不超过30天已被诊断患有心房颤动。

[0448] 222. 根据实施方案199至221中任一项所述的方法,其中所述患者具有降低的LVEF,其中所述LVEF为0.40或低于0.40或为0.41至0.49。

[0449] 223. 布新洛尔在治疗患者的心力衰竭伴心房颤动中的用途,其中对于CYP2D6中的一种或多于一种多态性,所述患者已被基因分型,并且其中所述患者已被确定为对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0450] 224. 一种用于治疗具有心力衰竭的患者的方法,所述方法包括在测量LVEF<0.40之后,或在测量LVEF $\geq$ 0.40但确定患者在出现心力衰竭之前不超过29天出现心房颤动之后,向患者施用有效量的包含布新洛尔的组合物。

[0451] 225. 根据实施方案224所述的方法,其中所述患者已被测量具有 $\geq$ 0.40的LVEF,并且被确定为在出现心力衰竭之前不超过29天出现心房颤动。

[0452] 226. 根据实施方案224所述的方法,其中所述患者已被测试并确定为对于 $\beta_1$ AR基因中的Arg389是纯合的。

[0453] 227. 根据实施方案224至226中任一项所述的方法,其中已经测定了来自患者的生物样品对于CYP2D6的活性,或对于一种或多于一种CYP2D6多态性已将来自患者的生物样品基因分型。

[0454] 228. 一种用于治疗患者的心房颤动伴心力衰竭的方法,所述方法包括在患者已经

[0455] a) 被确定对于 $\beta_1$ 肾上腺素能受体( $\beta_1$ AR)基因中的Arg389是纯合的;

[0456] b) 对于CYP2D6基因的两个等位基因和任何CYP2D6重复基因中的一种或多于一种多态性被基因分型;

[0457] c) 被测量LVEF,并被确定i) LVEF<0.40或ii) LVEF $\geq$ 0.40但确定所述患者在出现心力衰竭之前不超过29天出现心房颤动之后,向所述患者施用有效量的包含布新洛尔的组合物。

[0458] V. 实施例

[0459] 实施例1-2期GENETIC AF试验

[0460] 本文提供了布新洛尔与活性 $\beta$ -阻滞剂比较剂(琥珀酸美托洛尔、TOPROL XL)用于预防心房颤动(AF)、心房扑动(AFL)或全因死亡率(ACM)的评估。与布新洛尔不同,琥珀酸美

托洛尔在具有ADRB1 Arg389Arg基因型的HF<sub>r</sub>EF患者与具有389Gly变体的HF<sub>r</sub>EF患者之间没有表现出优先的治疗效果。该试验招募了具有ADRB1 Arg389Arg基因型和左心室射血分数(LVEF)降低、具有心力衰竭(HF)史且发生复发性AF风险高的患者。该试验的主要终点是AF/AFL(症状性或非症状性)或ACM的时间,这通过症状变化和监测具有发生复发性AF高风险的患者的ECG来评估。为了评估CYP2D6基因变异对药物水平、安全性和有效性的影响,该试验包括2D6基因分型和群体PK测量。

[0461] 在获得至少150名可评估患者的数据后,该试验采用了自适应无缝2B期/3期设计,并进行了中期分析。在该中期分析中,DSMB负责建议1)过渡至620名患者3期试验,以症状性AF/AFL或ACM作为主要终点,2)继续试验但在2期结束时招募约250名患者,或3)因无益而立即中止试验。该建议主要基于3期试验成功的贝叶斯预测概率(PPoS)以及其他因素,包括来自AF负担(AFB)连续心律监测亚研究的数据。中期分析是针对230名具有103例主要事件的随机化患者进行的,并且基于在无益以上但在3期过渡边界以下的PPoS,DSMB建议在2期完成试验。该公开内容包括对在2期试验中接受调查的267名患者的分析,其包括直到整个试验结束时的数据。

[0462] 在美国患者(267名随机化患者中的48%,主要事件中的51%)中,满足了对照组事件率和有效性的试验前假设,其中美托洛尔事件率为60%,风险比为0.70(95% C.I. 0.40, 1.19)。但是,整个队列并未达到有效性的试验前假设,其中风险比为1.01(95% CI: 0.71, 1.42)。在AF负担亚研究中,整个队列(N=69)的风险比为0.75(0.43, 1.32),而美国患者(N=42)的风险比为0.49(0.24, 1.04)。五个前美国国家中的两个(匈牙利和加拿大)呈现出明显不同的主要终点,其中风险比>1.5,并且与美国的交互作用p值分别为0.13和0.008。这两个国家的患者在发生心力衰竭前平均11个月(加拿大)或6年(匈牙利)出现AF的首次发病,相比之下,美国患者在AF发生前13个月出现心力衰竭。此外,匈牙利的随机化患者只有轻度LV功能障碍,在加拿大和匈牙利患者中,NHYA类心力衰竭症状均为不存在(I类)或轻度(II类)。相比之下,大多数美国患者具有NYHA II类或III类症状。

[0463] 数据分析得出结论,在除匈牙利以外的其他国家招募的美国和欧洲HF<sub>r</sub>EF患者中,布新洛尔和琥珀酸美托洛尔的有效性数据与布新洛尔和安慰剂的BEST试验数据一致。相比之下,在基线时不是NYHA II类或III类且在AF首次出现后数月或数年后发生HF的轻度LV功能障碍患者对布新洛尔的反应不佳。这可能是由于导致轻度LV功能障碍的长期AF的病理生理与导致AF的原发HF<sub>r</sub>EF病理生理相比存在差异。

[0464] GENETIC-AF是一项具有多项开创性意义的试验,其包括:(i)第一个在具有发生复发性AF高风险的HF<sub>r</sub>EF患者中研究单一药物干预的随机化试验,(ii)第一个将AF的AF负担定义与通过症状/ECG标准确定AF进行比较的试验,(iii)第一个用于报告数据的前瞻性设计的、药理学上针对性的心血管控制临床试验,和(iv)第一个用于测定每名患者的CYP2D6基因变体并比较基因型类别与药物水平、安全性和有效性的随机化β-阻滞剂有效性试验。

[0465] A. GENETIC-AF试验的设计(2期试验)

[0466] 布新洛尔和Toprol-XL用于预防心力衰竭患者的症状性心房颤动/心房扑动的基因型定向比较有效性试验(GENETIC-AF)<sup>30,31</sup>是一项自适应、无缝设计的2B期/3期比较有效性试验,其在2014年6月24日(第一名患者随机化)至2017年12月29日(随访的最后一天)进行。DSMB在2017年8月7日进行的中期分析中评估了该试验的2期终点,即发生任何复发性心



房颤动(AF)、心房扑动(AFL)或全因死亡率(ACM)的时间。尽管试验在2期停止,但仍收集了3期终点(即发生症状性AF/AFL或ACM的时间),并且结果在下文D部分中示出。

[0467] GENETIC-AF被设计用于评估盐酸布新洛尔与琥珀酸美托洛尔,特别是TOPROL-XL的有效性。下文实施例6中给出了研究药物的制备。GENETIC-AF是一项基因型定向、比较有效性的试验,其比较了布新洛尔与Toprol-XL用于预防心力衰竭患者的心房颤动/心房扑动。在筛选访视时对合适的患者进行基因分型,并且只有对受体的B1389Arg形式纯合的患者才符合加入试验的条件。

[0468] 除ADRB1 Arg389Arg基因型外,符合条件的患者还必须具有降低的左心室射血分数(LVEF)、心力衰竭(HF)史且发生复发性AF的风险高。高复发性AF风险被定义为存在随机化后符合进行心脏电复律(ECV)的条件的持续性AF或在过去6个月内有记录在案的AF史的窦性心律(SR)或阵发性AF。LVEF降低和HF症状史的标准通常限制了HF<sub>rEF</sub>群体。出于治疗反应差异和病理生理学<sup>32</sup>的原因,该类别最近被细分为HF<sub>mrEF</sub><sup>33</sup>(具有0.41至0.49的“中等范围”LVEF的HF)和HF<sub>rEF</sub>(LVEF≤0.40的HF)。3期的样本大小基于25%的预计效果量和330例事件,分别对应于α0.05的98%功效和α0.01的90%功效。

[0469] 经过长达8周的筛选期后,将患者1:1随机分配到接收布新洛尔或Toprol XL,并进入药物导入期,在此期间将患者向上滴定至治疗剂量水平。该药物导入期最多可以延长8周,但平均为4.4周,并且在两组中相似。该试验还包括使用Medtronic LINQ和其他Medtronic治疗装置进行AF负担亚研究,该装置可以在药物导入期间的任何时间植入。

[0470] 在药物导入期之后,具有AF/AFL的患者经历心脏电复律以建立窦性心律,随后进入24周疗效随访期。具有SR且不需要ECV的患者在开始研究药物后约3周开始疗效随访期。未确立窦性心律或在开始疗效随访之前死亡的患者被视为主要终点的事件在第1天发生。

[0471] 在疗效随访期间,定期观察患者,在此期间通过12导联心电图评估他们的心律,并询问他们可能与AF和HF相关的症状。在24周的主要终点期之后,患者进入设盲的治疗延长期,并继续接受对于长期安全性和临床结果的随访。

[0472] 试验还包括自适应设计元素,如果满足某些预先指定的标准,该元素将允许从2B期无缝过渡到3期。这是在对230名随机化患者进行的中期分析期间评估的,并基于使用中期数据的贝叶斯预测成功概率,该中期数据是针对620名患者和330例事件的3期目标建模的。

[0473] PPOs大于或等于40%将触发无缝过渡到3期,并继续招募最多620名患者。将PPOs<10%设置为无效,这将导致试验立即终止。这两个标准之间的PPOs将导致当前2B期群体的试验完成。

[0474] PPOs超过无效但不符合3期标准;因此,2B期阶段已完成,并且试验结果是破盲的。

[0475] 假设在GENETIC-AF中招募的大多数患者在招募前接受批准的HFβ-阻滞剂。因此,该方案规定,在随机访视时中止目前施用的β-阻滞剂疗法,并且将患者按1:1分配至以约50%的β1-肾上腺素能受体(AR)阻滞剂量最初接受布新洛尔或琥珀酸美托洛尔。然后每周将剂量加倍以达到目标(或最大耐受剂量),其中目标是在约3周(针对AF患者ECV的方案推荐时间点)内施用治疗剂量。

[0476] 主要疗效随访期为24周,对于AF/AFL患者,从ECV时间(第0周)开始,或者对于不需要ECV的SR患者,在随机化后约3周开始。对于需要在ECV之前进行其他医疗处理(例如调整

口服抗凝药)的患者,第0周可以稍后开始。经过24周的疗效随访期后,患者进入长期随访,继续进行设盲的研究药物并收集终点和安全性数据,直到试验完成。

[0477] 检测心律事件的初始方法包括电话传输心电图(TTM)和基于临床的ECG。由于智能手机时代的不可实行以及其他操作因素,TTM在第三版方案修订版中被放弃,并相应增加了基于临床的ECG的频率。该试验具有重要的AF负担(AFB)亚研究,该研究支持主要终点。在该分析中,AF/AFL事件的定义被预先规定为每天至少6小时的AF负担,其由植入或插入的装置记录。选择6小时的AF负担作为临床AF的替代终点,因为先前已证明该AF负担量与HF的住院率增加相关。

[0478] 为了获取每个随机化对象的主要终点信息,将对于ECV未转为SR的第0周AF患者与在开始疗效随访之前(即第0周之前)的研究药物向上滴定期间死亡的患者一样计为第1天达到终点。在图1中提供了试验设计的图,在图2中提供了试验主要操作事件的计划的示例。

[0479] 与1期(原始方案)相反,以下三次修订处于2期。第一次修订在首次患者随机化时发布,并且通常提供程序说明和研究资格标准的适度更改。在将约10名患者(占总招募人数的4%)患者随机化后,发布第二次修订,其中包括对研究资格标准进行了更实质性的更改以鼓励招募。这包括更广泛的心力衰竭标准并且包括阵发性AF,以及近期有AF史的SR患者。由于欧洲诊所的操作挑战,用于确认AF/AFL存在的第二次心律评估的时间也从第一次心律评估后的“至少1小时”更改为“至少10分钟”。在将约55名患者(占总招募人数的21%)患者随机化后,发布第三次修订。该修订包括对研究资格标准的一些修改,但主要侧重于简化研究程序和站点/患者负担。这包括删除所有TTM评估,并将用于确认稳定SR的ECV后持续时间从24小时减少到1小时。对方案的更改如下:

[0480] 修订1/方案v2.0

[0481] 以下更改是修订1的一部分。

[0482] ●先前所有2B期患者都需要进行的AF负担亚研究现在是任选的,但不参与的上限为不超过2B期群体的25%。

[0483] ●用于对阵发性/持续性AF进行分类的初始AF事件后7-9天的第三次心律评估不再需要进行。

[0484] ●需要说明的是,在患者AF复发后的研究过程中,允许使用某些抗心律失常药物(即胺碘酮、多非利特、氟卡尼和普罗帕酮)。

[0485] ●需要说明的是,对于自发转化为SR的患者,仅需要在第0周收集群体PK亚研究的血液样品。

[0486] ●更新以强调生命状态(即活/死)将在研究期间定期评估,包括针对退出研究并同意定期电话联系的患者进行评估。

[0487] ●要求筛查访视 $\leq 90$ 天的NYHA II/III类症状改为筛查访视 $\leq 90$ 天的症状性心力衰竭。

[0488] ●要求筛查访视 $\leq 180$ 天的症状性持续性AF改为由研究者确定在筛查和随机访视时对症状性AF需要进行ECV。

[0489] ●符合心脏舒张资格标准的左心室内部直径仅限于LVEF $\geq 0.40$ 且 $< 0.50$ 的患者。

[0490] ●明确了临床等容量的定义。

[0491] ●收缩压合格标准的下限从85mmHg增加至90mmHg。

- [0492] ●针对永久性AF、筛查时的NYHA IV类症状、未经治疗的二级Mobitz II或三级心脏传导阻滞以及心率 $<60\text{bpm}$ 或 $>180\text{bpm}$ 添加了排除标准。
- [0493] ●针对筛查期间长期使用吸入的 $\beta_2$ -选择性肾上腺素能激动剂和阵发性AF迹象，去除了排除标准。
- [0494] ●在发起人预先批准后的特殊情况下，进行修改以使向上滴定间隔短于一周。
- [0495] ●对于所有中止研究药物的患者，增加了在72小时内电话联系的要求。
- [0496] ●需要说明的是，基于单一心律评估的针对威胁生命的AF的心脏电复律或医学干预可作为主要终点事件。
- [0497] ●修改了检查全因死亡率或心力衰竭住院治疗的次要终点，以纳入AF/AFL事件。
- [0498] ●消除了探索VRR控制对全因住院治疗次要终点的影响的第三终点，现在将其作为该次要终点的支持性分析。
- [0499] ●添加了对VRR控制次要终点的支持性分析，以在研究药物中止时以及研究结束时评估该终点。
- [0500] ●药物滴定期的持续时间更改为随机化后的6周。先前定义为随机化至第8周(随机化后第11周)。
- [0501] ●描述了各种次要终点、第三终点和安全性终点的集合。
- [0502] 修订2/方案v3.0
- [0503] 以下是修订2中的具体更改
- [0504] ●提供了有关在随机化当天研究药物给药的时间以及要求将研究药物剂量向上滴定至方案指定目标的其他信息。
- [0505] ●更新了研究药物转换算法，以包括即时释放美托洛尔、控制释放卡维地洛和比索洛尔的指南。
- [0506] ●修改资格标准，以包括目前为窦性心律的HFREF患者，该患者在筛查访视 $\leq 120$ 天至少经历过一次症状性阵发性或持续性AF发作。
- [0507] ●将症状性心力衰竭 $\leq 90$ 天筛查的资格标准要求修改为心力衰竭史，其中最近一次评估为在筛查 $\leq 12$ 个月LVEF $<0.50$ 。
- [0508] ●将筛查时排除NYHA IV类症状改为随机化时排除NYHA IV类症状。
- [0509] ●具有AF消融史的患者排除时间从筛查的3个月更改为30天。
- [0510] ●修改了一些纳入和排除标准，以在随机访视而非筛查访视时有效。
- [0511] ●将24周随访期间的诊所访视计划修改为每4周一次。将在家中进行电话传输心电图(TTM)评估的计划更改为每4周一次，与诊所访视交替进行，以允许在24周的随访期内每2周进行一次心律评估。
- [0512] ●添加了收集两次TTM记录的要求，每次TTM评估至少间隔10分钟。
- [0513] ●将用于确认AF/AFL存在的第二次心律评估的要求从第一次心律评估后的“至少1小时”更改为“至少10分钟”。
- [0514] ●修改了AFSQ，以评估症状发生频率并消除/阐明潜在的模棱两可的问题。
- [0515] ●在TTM时，AFSQ的管理职责从TTM技术人员更改为站点人员。
- [0516] ●修改了第一次中期分析的时间，以消除对至少200名患者随机化的要求。
- [0517] 修订3/方案v4.0

[0518] 以下是修订3中的具体更改：

[0519] ●由于CYP2D6介导的药物与研究药物的相互作用的可能性，不再允许患者复发AF后将氟卡尼或普罗帕酮与研究药物伴随施用。

[0520] ●2B期的样本大小从200名患者更改为250名患者。样本大小的增加使得在满足2B期招募目标之前，可以考虑将更多的24周终点数据用于2B期中期疗效分析。但是，试验的总样本大小保持不变（即620名患者）。

[0521] ●先前，要求在过去12个月中具有最新的LVEF的患者才有资格参加试验。现在可以在过去12个月中的任何时间评估合格的LVEF。这种变化考虑了心力衰竭治疗后功能改善的潜力，同时仍然限定了起源于HFREF的心力衰竭群体。

[0522] ●合格的AF发作的窗口从筛查访视的120天增加到180天。

[0523] ●先前的ECV程序的排除窗口从12个月更改为6个月，并且现在相对于随机访视而非筛查访视。

[0524] ●修改了禁止使用的伴随用药标准，以仅排除频繁使用短效硝酸甘油治疗急性心绞痛；并不排除预防性使用缓释硝酸甘油来预防心绞痛。

[0525] ●为左心室辅助装置增加了新的排除标准。增加：“在随机访视的6个月内，存在左心室辅助装置(LVAD)或可能需要放置LVAD的病症。”

[0526] ●为症状性心动过缓患者增加了新的排除标准。增加：“未治疗的症状性心动过缓史，或者在研究者看来，在研究药物的全剂量下是否可能出现症状性心动过缓。”

[0527] ●为肺动脉高压史增加了新的排除标准。增加：“肺动脉高压史，其被定义为静息时肺动脉收缩压 $\geq 70$ mmHg，其通过超声心动图或右心导管检查评估。”

[0528] ●修改了几个实验室值的排除标准，以允许在筛查期间进行重新测试。

[0529] ●筛查访视和随机访视之间的最长时间间隔从4周增加到8周，以便在随机化之前有更多时间进行患者管理。

[0530] ●随机化和ECV之间的最长时间间隔从5周增加到8周，以便在心脏电复律之前有更多的时间进行患者管理。

[0531] ●从方案中去除了所有电话传输心电图要求，并且现在在疗效随访开始后第2周（第2周访问）需要进行诊所访视，以监测早期AF/AFL事件。

[0532] ●由于去除了TTM评估，因此要求站点在24周的随访期内拨打出站电话，以监测计划的诊所访视之间的AF/AFL事件。在这些通话期间，站点将由AFSQ来评估AF/AFL症状的潜在变化，如果研究者怀疑计划的诊所访视之间发生了新的AF/AFL事件，则要求患者必须返回诊所进行不定期的访视。

[0533] ●来自先前招募的患者的数据表明，几乎所有在第0周访视时处于SR的患者在24小时确认时也处于SR（只有一个例外）；因此，认为24小时时间点是不必要的，并除去该时间点以减轻患者和站点负担。因此，更改了稳定的窦性心律(SR)的主要终点定义。现在，将稳定的SR定义为相距第0周访视至少1小时的两次节律评估中的SR或心脏电复律(ECV)后至少1小时的SR。

[0534] ●取消了欧洲核心实验室在24周随访期内对ECG过度读取的要求。现在，将在对主要和次要心律终点进行终点判定时由临床事件委员会(CEC)对ECG进行过度读取。

[0535] ●取消了不参加任选AF负担亚研究的患者的2B期招募上限，这使得2B期和3期的

所有患者都可以选择AF负担亚研究。

[0536] ●更新了随机分层的定义,以阐明随机化的心房扑动(AFL)患者应被纳入心房颤动分层以进行随机化。

[0537] ●由于第24周后CEC不会判定症状性AF/AFL事件,因此取消了对总随访期间主要终点的支持性分析。

[0538] ●更新了在AF/AFL期间检查心室速率控制的次要终点,以符合临床事件委员会章程的要求。

[0539] ●为住院治疗的次要终点添加了支持性分析,该终点用于检查与心力衰竭相关的住院的子集。

[0540] ●对AF负担数据进行统计分析的方法被最小化,因为在数据分析计划中已经对分析进行了更详细的描述。

[0541] ●由于DSMB章程中提供了更详细的说明,因此从方案中除去2B期中期分析的详细信息。

[0542] ●添加了新的3期中期分析,以评估没有无效的情况以及是否有理由扩大总样本大小。DSMB章程中预先规定了3期中期分析的详细信息。

[0543] 试验招募了具有高AF/AFL复发风险的基因型确定的心力衰竭群体,在特定情况下,资格标准如下:

[0544] 1.左心室射血分数降低的心力衰竭史(HFrEF+HFmrEF)

[0545] 筛查访视的12个月内LVEF<0.50

[0546] 排除:NYHAIV类

[0547] 排除:随机化时明显的流体过量

[0548] 2.症状性阵发性或持续性AF发作≤180天的筛查访视

[0549] 排除:永久性AF>1年

[0550] 3.具有β1389Arg/Arg(ADRB1 Arg389Arg)基因型

[0551] 4.针对中风随机化之前接受适当的抗凝治疗

[0552] 5.如果在第0周访视时出现AF/AFL,则临床上适合ECV

[0553] 排除:随机化的6个月内进行超过2次ECV

[0554] 排除:最近的ECV未能产生窦性心律

[0555] 6.随机化时收缩压>90mmHg且<150mmHg

[0556] 7.随机化时心率≥60bpm(如果是BB是初始的)且<180bpm(全部)

[0557] B.GENETIC-AF试验的招募和随机化指标(2期试验)

[0558] 该试验在美国、加拿大和欧洲进行,其操作目标是招募美国约50%的患者。随机化的患者(n=267)来自110个地点,包括美国的48个,加拿大的20个,波兰10个,匈牙利9个,塞尔维亚8个,保加利亚8个,荷兰7个。

[0559] C.GENETIC-AF试验的中期分析(2期试验)

[0560] DSMB基于230名随机化患者进行了中期分析,其中103名发生AF/AFL/ACM事件,49名完成了24周的随访,而没有发生主要终点事件。由于该主要终点事件的数量无法通过常规/频率统计分析提供足够的统计功效,因此对达到主要终点事件的时间数据进行贝叶斯建模以生成“预测成功概率”(PPoS)值,从而假设试验将得出其620名患者/330例事件的3期

结论。

[0561] 试验的3期阶段包括第二次中期分析,以确定是否批准增加固定的200名患者的样本大小(N=820)。这种“有希望区域”<sup>37</sup>方法是基于预先确定的PPoS和应用于3期主要终点事件率的条件功效标准,这将在400名患者随机化后进行评估。<sup>30,35</sup>

[0562] 将PPoS估计值与图3所示的决策边界进行比较,从而为2B期DSMB建议创建了三个选项。对于PPoS $\geq$ 0.40和足够的安全性,试验将转换为3期,保留所有随机化患者,并且不会对试验设计进行实质性修改。在谱的另一端,对于PPoS $<$ 0.10或重大安全问题,因为无效而建议立即停止。考虑的第三个选项是中间的PPoS $\geq$ 0.10且 $<$ 0.40,这将导致建议继续并完成2期试验,并对大多数患者进行24周的随访。在这些条件下,2期试验的估计规模为N为200,并具有来自至少150名患者的可评估数据(即,完成了24周随访或有终点)。

[0563] 全部队列的PPoS接近无效边界0.11,但AF负担亚研究终点的PPoS为0.52,风险比为0.84(95% CI:0.45,1.57)。此外,DSMB还考虑了AF/AFL/ACM终点的美国结果,其风险比为0.73(0.41,1.28)。尽管这些趋势在统计学上并不显著,但在数字上显示布新洛尔更有优势。因此,根据中期分析,DSMB建议完成2期试验。

[0564] 这些中期结果与最终结果(下文D部分)一致,该最终结果包括实质上更多(39%)的事件。基于DSMB的建议,ARCA停止了试验的招募,并告知站点在24周的随访期内继续对所有患者进行随访。大多数患者完成了24周的随访期(平均随访期=21.4 $\pm$ 6.2周);然而,由于操作限制,对28名(10.5%)患者的随访被截断。

[0565] D.GENETIC-AF试验的最终结果(2期试验)

[0566] 1.统计分析计划(SAP)

[0567] 最初的SAP基于3期试验的完成,其主要终点为首次出现症状性AF/AFL或ACM的时间(补编,第7.3节)。当DSMB建议在2期完成试验时,开发了SAP附录(补编,第7.4节),该附录采用了2期DSMB方法进行中期分析,作为记录的SAP。该方法是必要的,因为预期2B期患者和事件的数量少于所预计的整个3期试验患者和事件数量的一半,从而导致主要终点没有足够的能力根据原始SAP中所述的常规统计分析进行无效评估。因此,图3中描述的贝叶斯预测概率构造适用于来自全部队列以及预先指定的亚组的最终结果。后者包括四个随机分层变量(HF病因:缺血性与非缺血性;LVEF: $<$ 0.35与 $\geq$ 0.35;Medtronic装置的类型:显示与非显示与无装置;和随机化时的节律状态:SR与AF/AFL),这也是3期SAP中预先确定的亚组。此外,在SAP修订中预先确定了持续性AF与阵发性AF的病史以及按地理区域进行的分析(美国与加拿大与欧洲),用亚组分析和贝叶斯建模。

[0568] 对于3期SAP中描述的常规分析,针对四个分层因素的对数秩统计进行协变量调整。贝叶斯建模也针对这些相同变量进行了协变量调整。对于常规构造的时间事件曲线,还提供了针对主要结果和小样本量亚组分析的未经调整的分析。

[0569] 2.基线特征

[0570] i)全部队列的基线特征:表1列出了全部队列和在美国、加拿大和欧洲群体中随机化的各组分的基线特征。

[0571] 表1:全部队列、美国、加拿大和欧洲的基线特征



[0572]

参数	全部队列 n = 267	美国 n = 127	加拿大 n = 59	欧洲 n = 81
年龄	65.6 ± 10.1	66.3 ± 10.7	62.8 ± 9.8	66.7 ± 9.0
性别 男/女(%)	82/18	87/13	86/14	72/28
种/种族: W/B/A/O/H (%)	96/2/1/1/3	93/4/1/2/5	98/0/2/0/0	100/0/0/0/1
LVEF	0.36 ± 0.10	0.33 ± 0.09	0.35 ± 0.10	0.42 ± 0.08
NYHA I/II/III (%)	28/57/15	17/57/26	32/61/7	43/53/4
Hx缺血性/非缺血性HF(%)	32/68	31/69	29/71	36/64
AF/非AF中的随机化(%)	51/49	59/41	58/42	32/68
Hx持续性/阵发性AF(%)	51/49	52/48	53/47	48/52
AF Dx至随机化, 天	1306 ± 2240	1236 ± 2192	1249 ± 1776	1458 ± 2605
HF Dx至随机化, 天	1153 ± 1909	1627 ± 2306	919 ± 1557	581 ± 1119
DTRI*	-153 ± 2649	391 ± 2839	-330 ± 1954	-876 ± 2617
sBP (mm Hg)	123.3 ± 15.3	119.9 ± 15.7	121.8 ± 15.1	129.6 ± 13.0
dBp (mmHg)	75.3 ± 10.8	73.8 ± 11.3	74.6 ± 9.5	78.1 ± 10.5
心率, bpm	76.3 ± 17.8	78.4 ± 19.4	75.9 ± 17.3	73.3 ± 15.0
先前ECV (%)	49	55	46	43
先前AF消融(%)	21	17	10	35
先前III类AAD(%)	48	47	34	59
装置类型: ILR/CRT/ICD/PM (%)	16/8/15/9	19/10/21/5	31/3/14/12	1/7/6/15
去甲肾上腺素(pg/ml)	673 ± 353	657 ± 373	656 ± 380	710 ± 298
NT-proBNP (pg/ml)	1250 ± 1596	1380 ± 1736	1471 ± 1911	891 ± 950
随机化HF治疗				
β-受体阻滞剂	248 (93%)	111 (87%)	57 (97%)	80 (99%)
ACEI/ARB	205 (77%)	94 (74%)	43 (73%)	168 (84%)
利尿剂	158 (59%)	81 (64%)	33 (56%)	44 (54%)
地高辛	43 (16%)	25 (20%)	11 (19%)	7 (9%)
螺内酯(MRA)	85 (32%)	42 (33%)	19 (32%)	24 (30%)
沙库巴曲/缬沙坦	11 (4%)	5 (4%)	6 (10%)	0 (0%)
CRT-P或CRT-D	21 (8%)	13 (10%)	2 (3%)	6 (7%)
ICD	40 (15%)	27 (21%)	8 (14%)	5 (6%)
抗凝作用				
华法林	63 (24%)	37 (29%)	5 (8%)	21 (26%)
利伐沙班	92 (34%)	40 (32%)	22 (37%)	30 (37%)
阿哌沙班	69 (26%)	43 (34%)	24 (41%)	2 (2%)
达比加群	30 (11%)	6 (5%)	7 (12%)	17 (21%)
其他OAC	11 (4%)	0 (0%)	0 (0%)	11 (14%)
无(AC禁忌症)	2 (1%)	1 (1%)	1 (2%)	0 (0%)
*DTRI=从第一次HF诊断到随机化的时间(天)减去从第一次AF诊断到随机化的时间 (DTRI, 诊断至随机化指数, 负值表示首先诊断为AF; 有关图示, 请参见附录7.11.3)。 W/B/A/O/H = 白人/黑人/亚裔/其他/西班牙裔。注意: 除非另有说明, 否则以平均值±标准偏差表示。				

[0573] 全部队列相对年轻(65.6岁),具有中度LV功能障碍/重塑(LVEF 0.36),并且主要是NYHA II类心力衰竭。随机化时,大多数(93%)患者使用过β阻滞剂。如预期的那样,施用了其他基于指南的心力衰竭药物,但心力衰竭群体的利尿剂使用率可能相对较低,为59%(例如,相比BEST<sup>14</sup>中的94%和MERIT-HF<sup>15</sup>中的90%)。几乎所有患者(99%)都在口服抗凝剂。下面描述了按地区或国家划分的基线特征的差异。

[0574] ii) 美国基线特征和患者群体:如表1所示,加拿大和欧洲的基线特征相比于美国存在差异。美国患者的LVEF最低(0.33)、收缩压最低(为收缩功能指标中的中度至重度LV功能障碍)、NYHA III类患者的比例最高(26%)、CRT/ICD装置的比例最高(31%)、利尿剂使用的比例最高(64%)、和心力衰竭平均持续时间最长(1627天)。重要的是,美国是唯一被诊断出心力衰竭实质上早于AF的主要地区/国家,这可以通过大型阳性DTRI(391天,参见表1脚注的定义)进行量化。相比之下,在全部队列(DTRI: -153天)和其他两个预先确定的主要地区(加拿大: -330天和欧洲: -876天)中,AF诊断通常要先于心力衰竭诊断相当长的一段时间。

[0575] 根据试验的进入标准,这些差异可能是由各个地区的PI推荐路线的类型造成的,其中美国站点强调招募后来发展为AF的HF患者(即预期的GENETIC-AF群体,其基于BEST和其他β阻滞剂试验的观察结果),这与长期以来后来发展为HF的长期AF的患者相反。值得注意的是,AF诊断的持续时间是导管消融术后维持窦性心律的重要预后决定因素。<sup>38,39</sup>

[0576] iii) 加拿大、欧洲基线特征:加拿大具有最年轻的患者群体(62.8岁),先前接受过III类抗心律失常药物治疗的患者比例最低,既往AF消融患者的数量最少(10%),NYHA III类患者很少(7%),而负值DTRI在2.5.2.2部分进行了评述。因此,加拿大队列可表征为患有中度LV功能障碍的患者,这些患者最初为AF,并最终发展出轻度心力衰竭症状。

[0577] 与美国相比,欧洲基线特征的差异主要归因于匈牙利,其患者人口统计数据列于表2A中,并在下文进行描述。

[0578] iv) 匈牙利与欧洲其他地区的基线特征:

[0579] 欧洲与表1中所示的其他两个地区之间的差异主要归因于在匈牙利招募的患者,如表2A所示,其中包括美国和除匈牙利之外的欧洲患者,以用于比较。如表2A所示,匈牙利队列与美国队列差异显著,匈牙利队列的LVEF较高(0.43与0.33)、几乎没有III类患者(3%与26%)、利尿剂使用较少(48%与64%)、收缩压高得多(131mm Hg与120mm Hg)、既往AF消融患者的比例极高(64%与17%)、NT-proBNP低(895pg/ml与1380pg/ml)、使用CRT/ICD装置的比例低(12%与31%)。匈牙利队列的DTRI也是所有国家中负值最大的(-2172天),这是由心力衰竭诊断时间(随机化之前562天)与AF诊断时间(随机化之前2734天)之间的巨大失衡造成的。因此,在匈牙利随机化的患者是长期存在AF的患者,这些患者曾经历过多次EP程序(例如消融、ECV)并最终发展为最低限度/轻度LV功能障碍和轻度心力衰竭。

[0580] 在其他三个欧洲国家(N=48)随机化的患者相比于美国队列也具有较高的LVEF(0.40)、缺乏III类心力衰竭(4%)、较高的收缩压(129mmHg)和相对较低的NT-proBNP水平(888pg/ml)。但是,与匈牙利不同,其他欧洲随机化患者具有非常短的AF诊断至随机化的时间(580天,相比于匈牙利的2734天),并且具有+14天的中性DTRI。因此,非匈牙利欧洲患者最明显的特征为轻度LV功能障碍和轻度心力衰竭,这些患者同时发展为AF和HF。

[0581] 表2A:在匈牙利、欧洲其他地区或美国随机化的对象的基线特征



[0582]

参数	匈牙利 n = 33	除匈牙利之外的欧洲, n = 48	美国 n = 127
年龄	67.5 ± 7.6	66.2 ± 9.9	66.3 ± 10.7
性别 男/女	70/30	73/27	87/13
LVEF	0.43 ± 0.08	0.40 ± 0.08	0.33 ± 0.09
NYHA I/II/III (%)	42/55/3	44/52/4	17/57/26
Hx缺血性/非缺血性HF(%)	36/64	35/65	31/69
AF/非AF中的随机化(%)	30/70	33/67	59/41
Hx持续性/阵发性AF(%)	48/52	48/52	52/48
AF Dx至随机化, 天	2734 ± 3527	580 ± 1077	1236 ± 2192
HF Dx至随机化, 天	562 ± 897	595 ± 1258	1627 ± 2306
DTRI*	-2172 ± 3647	14.1 ± 786	391 ± 2839
sBP (mm Hg)	130.8 ± 11.8	128.8 ± 13.9	119.9 ± 15.7
dBp (mmHg)	79.0 ± 12.2	77.4 ± 9.2	73.8 ± 11.3
心率, bpm	73.3 ± 15.4	73.3 ± 14.9	78.4 ± 19.4
先前ECV (%)	61	31	55
先前AF消融(%)	64	15	17
先前III类AAD(%)	58	60	47
装置类型: ILR/CRT/ICD/PM (%)	3/12/3/12	0/4/8/17	19/10/21/5
去甲肾上腺素(pg/ml)	703 ± 270	715 ± 319	657 ± 373
NT-proBNP (pg/ml)	895 ± 1091	888 ± 854	1380 ± 1736
随机化HF治疗			
β-受体阻滞剂	33 (100%)	47 (98%)	111 (87%)
ACEI/ARB	27 (82%)	41 (85%)	94 (74%)
利尿剂	16 (48%)	28 (58%)	81 (64%)
地高辛	2 (6%)	5 (10%)	25 (20%)
螺内酯(MRA)	8 (24%)	16 (33%)	42 (33%)
沙库巴曲/缬沙坦	0 (0%)	0 (0%)	5 (4%)
CRT-P或CRT-D	4 (12%)	2 (4%)	13 (10%)
ICD	1 (3%)	4 (8%)	27 (21%)
抗凝作用			
华法林	7 (21%)	14 (29%)	37 (29%)
利伐沙班	12 (36%)	18 (38%)	40 (32%)
阿哌沙班	2 (6%)	0 (0%)	43 (34%)
达比加群	4 (12%)	13 (27%)	6 (5%)
其他OAC	8 (24%)	3 (6%)	0 (0%)
无(AC禁忌症)	0 (0%)	0 (0%)	1 (1%)
*DTRI=从第一次心力衰竭诊断到随机化的时间(天)减去从第一次AF诊断到随机化的时间(DTRI, 诊断至随机化指数, 负值表示首先诊断为AF)。 注意: 除非另有说明, 否则以平均值±标准偏差表示。			

[0583] 表2B: 基线特征(±SD; \*p&lt;0.05相对于MET)

[0584]

参数	MET n = 133	BUC N = 134
年龄	65.5 ± 10.0	65.8 ± 10.3
性别 男/女(%)	81 / 19	83 / 17
LVEF	0.36 ± 0.10	0.36 ± 0.10
NYHA I / II / III (%)	26 / 54 / 20	30 / 60 / 10
Hx缺血性/非缺血性HF(%)	33 / 67	31 / 69
AF/非AF中的随机化(%)	52 / 48	49 / 51
Hx持续性/阵发性AF(%)	51 / 49	51 / 49
AF Dx至随机化, 天	1180 ± 2209	1431 ± 2271
HF Dx至随机化, 天	1054 ± 1733	1252 ± 2070
sBP (mm Hg)	122 ± 15.7	125 ± 14.9
心率, bpm	76.0 ± 17.7	76.5 ± 17.9
先前ECV/AF消融/III类AAD(%)	50 / 20 / 46	49 / 21 / 50
装置类型: ILR / CRT / ICD / PM (%)	15 / 10 / 12 / 10	17 / 6 / 18 / 9
HF Rx: b-bi/ACEI或ARB/地高辛/利尿剂/ MRA/沙库巴曲-缬沙坦 (%)	92 / 78 / 17 / 61 / 32 / 5	94 / 75 / 15 / 57 / 32 / 4
NT-proBNP (pg/ml)	1343 ± 1846	1159 ± 1306
去甲肾上腺素(NE) (pg/ml)	664 ± 359	682 ± 348
4周时NE的变化, 中位数 (Q1, Q3)	-10 (198, 121)	-101 (-241, 43)*

[0585] 总研究群体的基线特征在治疗组之间是均衡的。但是, 患者特征存在一些地区差异, 这可能导致主要终点的更大异质性。

[0586] 表2B中突出的关键特性:LVEF; 主要是NYHA I/II; 随机化的一半为AF; 一半为持续性AF, 一半为阵发性AF; 一半进行过心脏电复律, 一半接受过III类AAD, 20%进行过消融; 一半植入了装置; 对于90%以上以前接受BB治疗的HF群体, 药物治疗是典型的。NT-proBNP升高且与HF群体一致。第4周时各组之间的基线NE水平相似, 但仅布新洛尔组降低, 这与布新洛尔独特的交感神经阻滞作用相一致。

[0587] 3.2期试验主要终点

[0588] 在24周疗效随访期开始之前, 布新洛尔组中有2名(1.5%)患者, 美托洛尔组中有7名(5.3%)患者退出了研究。这些患者在第1天接受了主要终点分析, 除了美托洛尔组中的1

例死亡被视为第1天的事件。在试验期间观察到143个主要终点事件。这些事件中有73例属于布新洛尔组,其由64例AF/AFL事件、9例ECV失败和无死亡组成。美托洛尔组发生70例事件,其由56例AF/AFL事件、11例ECV失败和3例死亡组成。

[0589] i) 贝叶斯预测概率

[0590] 试验2期阶段的主要分析是对达到ACM或任何(症状性或非症状性)AF/AFL的时间进行贝叶斯建模,以得到620名患者和330例事件的谨慎3期试验的预测成功概率(PPoS)。还对3期样本大小增加到820的DSMB章程的有希望区域进行建模(表3)。

[0591] 表3:在620名患者/330例事件或820名患者/430例事件的试验中达到 $p < 0.05$ 的贝叶斯预测概率(PPoS)

分析	620 名患者, 330 例事件		820 名患者, 430 例事件	
	全部队列	美国	全部队列	美国
中期分析(103 例实际事件)	0.114	NA	NA	NA
[0592] 完成的 2 期(143 例实际事件)	0.144	0.606	0.186	0.678
注意: 中期分析模型假定包括 2B 期群体在内的现有试验已经完成; 然而, 最终分析模型假定进行了谨慎的 3 期试验, 其中不包括 2B 期群体。				

[0593] 修订的统计分析计划还要求对其他亚组进行贝叶斯建模,如上述统计分析计划中所述。仅针对美国进行了美国与加拿大与欧洲的地理区域分析,对于谨慎的620名患者试验,得到PPoS为0.606,对于820名患者试验,得到PPoS为0.678。

[0594] ii) 2期主要端点的事件分析时间

[0595] 图4A给出了全部队列中2期主要终点(任何AF/AFL或ACM)的时间事件曲线,并具有经协变量调整和未经调整的风险比。布新洛尔曲线末端的下降是由在168天至180天(完成24周随访的统计分析计划最大间隔)具有主要终点的美国、加拿大、匈牙利和波兰随机化队列中的每名患者的引起的,其中作为分母的处于高风险的患者很少。对于经调整和未经调整的分析,时间事件曲线未显示出布新洛尔与琥珀酸美托洛尔对2期主要终点的影响存在差异。

[0596] 与全部队列数据相比,在美国队列中观察到治疗组之间的间隔(图4B),其中经调整的风险比为0.70(95% CI:0.41,1.19; $p=0.19$ ),未经调整的风险比为0.77(95% CI:0.48,1.22; $p=0.27$ )。GENETIC-AF的2期阶段基于假定的25%的效果大小,不足以达到统计学上的显著性,但是如表3所示,如果将美国结果推广到谨慎的未来试验的全部群体中,则0.606的预测概率可能会导致给出以相近的目标群体进行后续3期试验的建议。

[0597] 可以将图4中的数据解释为:1) 在全部队列中(图4A),没有证据表明布新洛尔与批准的心力衰竭 $\beta$ 阻滞剂之间的疗效存在差异,该 $\beta$ 阻滞剂显示出在HFREF中可使AF风险降低48%<sup>12</sup>;和2) 在具有更多HFREF驱动的病理生理学的美国患者中(图4B)(参见3iii)部分和下文F部分),有证据表明布新洛尔比琥珀酸美托洛尔具有更好的治疗效果。

[0598] iii) 治疗效果的地理异质性

[0599] 从全部队列与美国的结果可以推断出,对于2期的主要终点数据国家之间存在明显的异质性,其中加拿大和匈牙利的结果与美国的结果差异很大。这在图5所示的时间事件曲线图中是明显的。通过交互作用测试,匈牙利与美国中的风险比是极其显著的( $p=0.008$ ),这意味着这些地区差异可能是真实的(在下文解决)。通过交互作用测试,加拿大的风险比与美国没有显著差异( $p=0.13$ )。在欧洲,匈牙利与其他三个国家明显不同,后者的风险比为0.50(0.21, 1.21)(图5D),而匈牙利的风险比为2.90(0.70, 11.8)(图5C)(交互作用 $p=0.18$ )。此外,在移除匈牙利后的全部队列中进行的分析得到的风险比为0.82(95% CI:0.57, 1.19;  $p=0.29$ )。

[0600] iv) 2B期主要终点的Cox建模

[0601] 根据SAP,进行了Cox比例风险回归建模,以探究主要终点的重要预测因子。这项工作始于对每个预测因子进行单独检查,以此作为建立多项模型的序幕。在Cox模型中检查了每个预测因子,包括治疗和通过预测因子交互作用的治疗项以及没有交互作用项的模型。如果通过预测因子交互作用项进行的治疗不显著,则两个预测因子模型的结果更适合于选择要包含在多项模型中的变量。这些初始模型的结果总结在表4中。

[0602] 表4: II期终点的Cox建模: 单个预测因子运行

预测因子	较大风险的测试值	3个预测因子的模型			2个预测因子的模型	
		Tx	Pred.	Tx * Pred 相互作用	Tx	Pred.
随机分层的节律	AF	0.66	<0.0001	0.51	0.83	<0.0001
随机化时的心率	较高值	0.96	0.042	0.99	0.8	<0.0001
AF类型	持续	0.77	0.061	0.49	0.72	0.001
随机化时的SBP	较高值	0.147	0.63	0.152	0.84	0.006
HF诊断天数	较长诊断	0.66	0.63	0.73	0.77	0.007
初始研究剂量水平	较高剂量水平	0.79	0.89	0.35	0.39	0.017
ECV(先前)计数	较高计数	0.37	0.78	0.3	0.76	0.018
HF病因分层	缺血性病因	0.91	0.043	0.53	0.81	0.023
随机化时的NT-proBNP	较高值	0.48	0.75	0.28	0.91	0.04
筛选时的NYHA	较高值	0.59	0.91	0.57	0.99	0.043
AF诊断天数	较高值	0.178	0.145	0.025	0.83	0.067
装置分层	NA	0.98	0.77	0.77	0.72	0.109
ECV或消融 是/否(先前)	任何一个的历史	0.51	0.13	0.52	0.79	0.134
国家	NA	0.23	0.105	0.048	0.88	0.242
随机化时的DBP	较高值	0.18	0.093	0.159	0.71	0.279
随机化之前的 $\beta$ -阻滞剂	NA	0.66	0.68	0.98	0.84	0.42
DTRI: <-30、-30至30、>30)	首先诊断为AF	0.43	0.49	0.34	0.81	0.47
随机化时的肌酸酐	较高值	0.3	0.188	0.26	0.82	0.48
ECV + 消融总计数	较高计数	0.75	0.64	0.93	0.74	0.52
消融(先前) 计数	较高计数	0.83	0.137	0.186	0.78	0.62
LVEF	较高值	0.79	0.96	0.84	0.8	0.66
LVEF分层	LVEF < 35%	0.74	0.89	0.82	0.8	0.68
CYP2D6	较低代谢	0.21	0.29	0.174	0.98	0.93
随机化时的NE	较高值	0.63	0.73	0.72	0.73	0.99

[0603] 确定的2期主要终点事件的预测因子包括:

- [0605] ●随机化时存在AF
- [0606] ●随机化时心率较高
- [0607] ●持续性AF史
- [0608] ●随机化时收缩压较高
- [0609] ●从HF诊断到随机化的时间较长
- [0610] ●初始研究药物剂量水平较高
- [0611] ●先前ECV的数量较多
- [0612] ●缺血性病因的HF
- [0613] ●随机化时NT-proBNP较高
- [0614] ●筛查时NYHA类别较高 | 正文 | ZZMPTAG |
- [0615] ●从AF诊断到随机化的时间较长 | 正文 | ZZMPTAG |

[0616] 通过 $p$ 值 $<0.05$ 的治疗交互作用项的最合适预测因子是国家和AF诊断的时间长度。在E.8部分和F部分中介绍的亚组分析中进一步检查了这些作用。将AF诊断的时间长度与另一个重要预测因子,即HF诊断的时间长度( $p=0.007$ )组合,以创建DTRI(实施例6C)。由于值的分布范围较大(最小值 $= -15252$ ,中位数 $= -1$ ,最大值 $= 9533$ ),因此证明该度量难以拟合到模型中。目前,这些值被转换为3类,这降低了预测能力。F部分中介绍的亚组分析更好地量化该度量的真正影响。

[0617] 为了更好地定义响应者群体以用于将来的试验,该过程的下一步是构建包含多个项的模型。挑战在于这些预测因子之间的高度相关性。高相关性意味着信息的高度重叠,这可能会导致模型的潜在过度参数化。特别地,发现以下的随机化时HF严重性指标集彼此高度相关:HF诊断的时间长度;NT-proBNP;NYHA;sBP和LVEF。此外,正如预期的那样,发现AF诊断的时间长度和研究前ECV的数量高度相关。发起人接下来将逐步进行模型构建过程,将各个预测因子鉴定为具有重大预测能力。

#### [0618] 4. AF负担

[0619] i) 对AF负担亚研究的事件分析时间

[0620] GENETIC-AF包含在24周的主要终点随访期间使用Medtronic CRT、ICD、双腔起搏器或试验提供的植入式环路记录仪(ILR)进行的连续监测亚研究。与Medtronic合作进行的AF负担亚研究的主要目的是通过连续监测来测量AFL/AFL事件,以提供比临床或预定的ECG检测更准确的AF/AFL发作的测量。这些信息对于DSMB的中期分析评估也很重要。<sup>26</sup>表6列出了AF负担亚研究患者的基线特征。

[0621] 表6:AF负担整体亚研究群体与整体研究队列的基线特征



[0622]

参数 ( $\pm$ SD)	整体研究队列 n = 267	美国研究队列 n = 127	AFB亚研究队列 n = 69
年龄 (岁)	65.6 $\pm$ 10.1	66.3 $\pm$ 10.7	66.1 $\pm$ 10.7
性别 男/女 (%)	82/18	87/13	93/7
LVEF	0.36 $\pm$ 0.09	0.33 $\pm$ 0.09	0.34 $\pm$ 0.08
NYHA I/II/III (%)	28/57/15	17/57/26	23/57/20
Hx 缺血性/非缺血性HF (%)	32/68	31/69	27/73
AF/非AF中的随机化 (%)	51/49	59/41	65/35
Hx 持续性/阵发性AF (%)	51/49	52/48	64/36
AF Dx至随机化, 天	1306 $\pm$ 2240	1236 $\pm$ 2192	1355 $\pm$ 1984
HF Dx至随机化, 天	1153 $\pm$ 1909	1627 $\pm$ 2306	1168 $\pm$ 1723
DTRI*	-152 $\pm$ 2649	391 $\pm$ 2839	-185 $\pm$ 2558
sBP (mm Hg)	123.3 $\pm$ 15.3	119.9 $\pm$ 15.7	123.3 $\pm$ 15.1
dBp (mmHg)	75.3 $\pm$ 10.8	73.8 $\pm$ 11.3	75.0 $\pm$ 10.1
心率, bpm	76.3 $\pm$ 17.8	78.4 $\pm$ 19.4	78.4 $\pm$ 17.2
先前ECV (%)	49	55	55
先前AF消融(%)	21	17	13
先前三级AAD(%)	48	47	54
装置类型: ILR/CRT/ICD/PM (%)	16/8/15/9	19/10/21/5	62/13/16/9
去甲肾上腺素(pg/ml)	673 $\pm$ 353	657 $\pm$ 373	706 $\pm$ 368
NT-proBNP (pg/ml)	1250 $\pm$ 1596	1380 $\pm$ 1736	1568 $\pm$ 2053
*DTRI=从第一次HF诊断到随机化的时间(天)减去从第一次AF诊断到随机化的时间(DTRI, 诊断至随机化指数, 负值表示首先诊断为AF)。 注: 除非另有说明, 否则以平均值 $\pm$ 标准偏差表示。			

[0623] AF负担亚研究队列的基线特征与整体研究队列相似,但AF负担亚研究队列的LVEF较低(0.34与0.36),三类NYHA比例略高(20%与15%),AF随机化的患者比例较高(65%与51%),NT-proBNP较高(1568pg/ml与1250pg.ml),先前AF消融患者比例较小(13%与21%)。AF负担亚研究队列也与美国研究队列非常相似,不同的是NT-proBNP略高(1568pg/ml与1380pg.ml)和负的DTRI(-185天与391天)。在AF负担亚研究与美国患者中,根据NT-proBNP的差异,可能是AF负担亚群体具有LVEF或NHYHA类别未捕获的更晚期的LV功能障碍或心力衰竭,但差异也可能是由于AF随机化的患者%更高而引起的。通常,美国AF负担亚研究的患者群体相似,这反映出美国患者对AF负担亚群体的巨大贡献(61%)。

[0624] 图7展示了针对AFB亚研究(A)和美国队列(B)的患者使用植入装置进行连续监测得出的到达AF/AFL事件数据的时间。在此分析中,AF/AFL事件是基于每天至少6个小时的AFB,先前已证明这与HF的住院率增加相关<sup>24</sup>。

[0625] 在整体AFB队列中(N=69),在Kaplan-Meier曲线中观察到针对首次装置检测到的AF/AFL/ACM事件的时间的治疗组的分离,产生0.75(95% CI:0.43,1.32)的未调整风险比,有利于布新洛尔。在美国队列(N=42)中,观察到更好的治疗效果,其中风险比为0.49(95% CI:0.24,1.04)。AFB亚研究群体中来自美国的患者比例更高,这可能部分解释了为什么相较于总体研究群体(HR=1.01;95% CI:0.71,1.42),在AFB亚研究队列(HR=0.75;95% CI:0.43,1.32)中观察到更大的获益趋势。但是,区域性均衡不能解释与在基于间歇性/基于临床的ECG检测的整体美国队列中看到的结果相比(HR=0.70;95% CI:0.41,1.19),在美国AFB队列中观察到的更大的治疗响应(HR=0.49;95% CI:0.24,1.04)。因此,在相同的AFB群体中比较了两种节律评估方法,以确定检测方法对治疗获益的影响。

[0626] 图8给出了整体队列(A)和美国患者(B)的AFB亚研究患者AF/AFL事件数据的时间。AFB定义的终点(即每天6个小时的AFB或ACM)和2期终点(即由ECG/TTM确定的AF/AFL/ACM)显示在同一轴上以进行比较。

[0627] 如图8A所示,两个治疗组的AFB和ECG/TTM确定的终点非常接近,其中AFB曲线略

陡,可能反映了较早的检测。在整个AFB队列中,到达事件的中位时间为9天(AFB检测),临床/ECG测定的中位时间为16天( $p < 0.0001$ ),而AFB美托洛尔(9天)队列与布新洛尔(6.5天)组的间隔无差异( $p = 0.73$ )。在图8B的美国中观察到类似的结果,其中两种方法都检测相似的治疗效果。因此,方法学上的差异并不能解释为什么AFB群体比总的研究群体对于布新洛尔的响应更好。美国AFB队列( $HR = 0.49$ ; 95% CI: 0.24, 1.04)中观察到的治疗效果在数字上与前美国AFB队列( $HR = 1.32$ ; 95% CI: 0.45, 3.87)相比有很大不同;因此,比较了这两组的基线特征,如表7所示。

[0628] 表7:AFB亚研究群体的基线特征

参数	AFB整体亚研究 n = 69	美国 AFB亚研究 n = 42	Ex-美国 AFB亚研究 n = 27
年龄(岁)	66.1 ± 10.7	67.4 ± 1.70	64.3 ± 9.9
性别 男/女(%)	93/7	95/5	89/11
人种/民族性: W/B/A/O/H (%)	96/1/1/1/3	93/2/2/2/5	100/0/0/0/100
LVEF (%)	0.34 ± 0.08	0.33 ± 0.80	0.37 ± 0.93
NYHA I/II/III (%)	23/57/20	14/52/33	37/63/0
Hx 缺血性/非缺血性HF (%)	27/73	36/64	15/85
AF/非AF中的随机化 (%)	65/35	71/29	56/44
Hx 阵发性/突发性AF (%)	64/36	74/26	48/52
AF Dx至随机化, 天	1355 ± 1984	1195 ± 2005	1603 ± 1961
HF Dx至随机化, 天	1168 ± 1723	1588 ± 2007	519 ± 822
DTRI*	-185 ± 2558	393 ± 2650	-1084 ± 2160
sBP (mm Hg)	123.3 ± 15.1	121.8 ± 16.0	125.6 ± 13.5
dBp (mmHg)	75.0 ± 10.1	74.5 ± 10.3	75.8 ± 10.0
心率, bpm	78.4 ± 17.2	77.9 ± 17.7	79.4 ± 16.7
先前ECV (%)	55	55	56
先前AF消融(%)	13	10	19
先前三级AAD(%)	54	55	52
装置类型: ILR/CRT/ICD/PM (%)	62/13/16/9	57/14/24/5	70/11/4/15
去甲肾上腺素(pg/ml)	706 ± 368	660 ± 310	782 ± 441
NT-proBNP (pg/ml)	1568 ± 2053	1652 ± 2354	1441 ± 1530
*DTRI=从第一次HF诊断到随机化的时间(天)减去从第一次AF诊断到随机化的时间 (DTRI, 诊断至随机化指数, 负值表示首先诊断为AF)。 W/B/A/O/H=白人/黑人/亚裔/其他/西班牙裔 注: 除非另有说明, 否则以平均值±标准偏差表示。			

[0629] 与前美国AFB队列相比,响应较快的美国AFB队列的年龄稍大一些,具有更晚期的心力衰竭(即LVEF较低、III类NYHA患者较多、NT-proBNP较高),且缺血性HF患者的比例更高。美国队列中从HF诊断到随机化的平均时间也比前美国AFB队列的平均时间长3倍,且AF诊断到随机化的平均时间稍短。这导致DTRI得分出现实质性差异,表明美国AFB队列主要由在其AF之前已被诊断为HF的患者(DTRI = 393天)组成;而前美国队列主要包括那些在其HF之前被诊断为AF的患者(DTRI = -1084天)。这些特征与E.2节中描述的总研究群体中响应更快的区域队列相似

[0631] ii) 曲线下面积(AUC)。

[0632] 通过植入<sup>40</sup>或插入<sup>41</sup>装置连续监测节律来测量AFB已被宣布为一种理想的AF测量方法,并且与中风风险<sup>42,43</sup>和心力衰竭患者中的心力衰竭住院风险相关。<sup>34</sup>为了评估抗心律失常药物(ADD)的效果,AFB最有效地采用了预处理控制期,随后是治疗期,在此期间,每个患者均作为他/她自身的对照来进行基线分析。<sup>40,44</sup>

[0633] GENETIC-AF群体中的AF负担数据倾向于呈双峰分布<sup>45</sup>,即每天0小时AFB或24小时AFB,这造成了很大程度的差异,使分析变得复杂。而且,预处理期是不实用的,因为许多患

者通过插入的环路记录仪测量AFB,该记录仪通常在随机化时或在疗效随访开始前的向上滴定期(通常在随机化后3周)放置。因此,AFB分析在平行设计中比较了两种处理,而没有受益于基线计算的变化。

[0634] 图9给出了在24周的随访期内每6周间隔(即四分位数)的平均AFB,并通过威尔科克森符号秩和检验进行了治疗比较。

[0635] 如图9A所示,平行设计AFB测量具有较大的变异系数,通常超过100%。尽管在治疗过程中存在布新洛尔与美托洛尔逐渐降低AFB的趋势,但对于6周间隔的任何一个或整个24周周期,其影响在统计学上均不显著(所有数据 $p=0.48$ ,且干预后检查数据时, $p=0.65$ )。在图9B中看到布新洛尔组的更大减少的相似趋势,在患者接受可以终止AF的治疗时,或者在研究药物终止时,对其进行审查。

[0636] 实施例5C和表26中给出了未经审查和经审查的分析在24周随访期内按周计算的平均AFB。在受审查的分析中,在第16、17、20、21和22周,布新洛尔与美托洛尔组的AFB的 $p<0.05$ 。

[0637] 基于这些数据,不能得出结论,在平行设计中,作为检测AF中治疗效果的方法,AFB在症状改变触发或常规监测ECG方面具有优势。但是,每天6个小时的AFB似乎是随后发展临床AF的极好的替代指标。

[0638] 5. 次要终点

[0639] 方案次要终点:表8列出了方案次要终点的的数据。

[0640] 表8:整体队列和美国随机化患者的次要终点

次要终点	整体队列		美国	
	美托洛尔 n = 133	布新洛尔 n = 134	美托洛尔 n = 67	布新洛尔 n = 60
24周随访期间的症状性AF/AFL/ACM	见第2.5.4节 (3期主要终点)			
24周随访期间的VT、VF或Sx SVTd, N (%)	1 (0.8%)	2 (1.5%)	0 (0.0%)	1 (1.7%)
总研究期间的总全因住院治疗, 天/患者	1.7 ± 5.5	2.8 ± 8.1	2.8 ± 7.3	3.3 ± 9.6
总研究期间的AF/AFL/ACM或HF住院治疗, N (%)	78 (58.6%)	85 (63.4%)	46 (68.7%)	42 (70.0%)

[0642] 除AF/AFL外,基于住院治疗的心律失常的次要终点太少,无法评估。

[0643] 心力衰竭组分终点:表9包含了在总研究期中收集的心力衰竭终点,作为次要终点或第三终点的组分。同样,事件相对较少,且数据不可评估。但是,没有迹象表明布新洛尔对心力衰竭的主要结果影响较小。

[0644] 表9:在整体研究期间的整体队列和美国随机化患者的心力衰竭终点

终点	整体队列		美国	
	美托洛尔 n = 133	布新洛尔 n = 134	美托洛尔 n = 67	布新洛尔 n = 60
ACM	3 (2.3%)	3 (2.3%)	2 (3.0%)	3 (5.0%)
HF住院治疗	11 (8.3%)	10 (7.5%)	9 (13.4%)	6 (10.0%)
ACM或HF住院治疗	12 (9%)	11 (8%)	9 (13.4%)	8 (13.3%)
CV住院治疗	15 (11.3%)	18 (13.4%)	12 (17.9%)	8 (13.3%)

[0646] 6. 对去甲肾上腺素、NT-proBNP的影响



[0647] i) 去甲肾上腺素

[0648] 由于交感神经阻滞作用被认为是布新洛尔有利地抑制ADRB1 Arg389受体的主要机制,<sup>19</sup>因此在基线以及疗效随访的第4、12和24周测量了外周静脉血浆去甲肾上腺素(NE)。

[0649] 表10列出了疗效随访期从基线到第4周的NE变化,因为这大约是在研究药物开始后7周,此时应充分表现出布新洛尔的NE降低作用,并且分析受混杂因素的影响较小(例如,研究取消、药物中断)。实施例5D显示了第12周和第24周的数据。在第4周的采样中,通过在整体队列中以及除加拿大以外的所有国家/地区的组内NE减少可以很容易地确定布新洛尔的交感神经阻滞作用。与整体队列和加拿大的美托洛尔变化相比,布新洛尔组NE的这些变化的 $p < 0.05$ ,而匈牙利有趋势( $p = 0.066$ )。以中值计算,整体队列和美国的减少程度均为101pg/ml,匈牙利为213pg/ml,欧洲其他地区为121pg/ml。与第12周的最佳试验中的75pg/ml相比,<sup>22</sup>这些降低在布新洛尔组中基线NE较低,为529pg/ml。在全基因型最佳试验的整体队列中,在匈牙利随机化的患者中,NE的大幅减少在与不良结果相关的范围内( $< -144$ pg/ml)。在第4周测量时,美托洛尔与任何区域的组内NE变化无关。

[0650] 在第12周时(表27),布新洛尔组的NE减少持续存在,并且在整体队列( $p < 0.0001$ )、美国( $p = 0.011$ )和匈牙利( $p = 0.022$ )中达到大致相同的程度,但加拿大显示出显著降低(降低100pg/ml, $p = 0.016$ )。匈牙利的减少量再次处于与最佳不良结果相关的范围内。在第12周,GENETIC-AF整体队列的美托洛尔组表现出显著的NE降低(降低了57pg/ml),且治疗组之间的变化不再显著( $p = 0.18$ )。尽管美国( $p = 0.070$ )和加拿大( $p = 0.061$ )表现出趋势,但在第12周,没有任何地区或国家在美托洛尔组内出现NE降低。在第24周时(表27),整体队列再次显示了布新洛尔治疗组的NE降低( $p = 0.012$ ),但幅度比第4周或第12周时降低较少(降低了47pg/ml)。美国的减少量也较少(降低了46pg/ml,无统计学显著性( $p = 0.058$ ))。匈牙利的布新洛尔组降低幅度仍然很大(降低193pg/ml),并具有统计显著性;加拿大的降低幅度不再显著,远小于第12周时的降低(降低21pg/ml)。第24周的美托洛尔组中没有NE变化。

[0651] 因此,NE数据为:1)与双重的布新洛尔的交感/β阻滞剂作用机理及其与美托洛尔和其他β阻滞剂的区别相一致;<sup>21</sup>2)NE变化的模式可能与布新洛尔的治疗作用相关,在ADRB1 Arg389Arg中基因型中在120pg/ml范围内的NE降低与治疗效果的增强相关,<sup>19</sup>但在匈牙利中出现的更大的降低会带来不良后果的风险。<sup>22</sup>

[0652] 关于在第4周和第24周在加拿大缺乏布新洛尔的交感神经阻滞作用,尽管加拿大在所有国家和地区中的中位基线NE水平最低(与所有其他基线值相比,没有统计学显著性( $p = 0.33$ )),但全身性NE水平低估了心脏肾上腺素的激活。此外,在第4周,布新洛尔对基线值高于522pg/ml中位数的加拿大患者没有产生交感神经阻滞作用。在加拿大,布新洛尔缺乏交感神经阻滞作用的可能解释是非常轻度的心力衰竭(仅7%的III类NYHA,表1)和肾上腺素活化程度较低的趋势。尽管布新洛尔组的变化与美托洛尔组无差异,但加拿大布新洛尔组第12周的NE减少可以抵消加拿大患者不具有来自布新洛尔的交感神经阻滞作用。因此,与其他国家或地区相比,布新洛尔在加拿大的交感神经阻滞作用至少不那么一致。

[0653] 表10:血浆去甲肾上腺素(NE)水平(pg/ml)

[0654]

参数	整体队列		美国		加拿大		匈牙利		除匈牙利外的欧洲	
	美托洛尔 N=128	布新洛尔 N=134	美托洛尔 N=64	布新洛尔 N=60	美托洛尔 N=26	布新洛尔 N=32	美托洛尔 N=15	布新洛尔 N=18	美托洛尔 N=23	布新洛尔 N=24
基线 平均值±SD	664 ±359	682 ±349	664 ±386	650 ±362	674 ±429	642 ±341	627 ±258	767 ±270	675 ±250	753 ±375
基线中位数	590	607	599	598	541	522	571	792	592	691
第4周 平均值±SD	617 ±29	563 ±25	616 ±42	529 ±38	613 ±62	583 ±52	530 ±63	576 ±56	676 ±73	604 ±60
第4周 中位数	570	500	556	473	605	551	460	525	612	540
Δ 平均值 ± SEM	-36 ±32	-124 ±26	-18 ±48	-136 ±47	-97 ±58	-59 ±44	-35 ±66	-208 ±62	-18 ±89	-126 ±53
Δ 中位数	-10	-101	+29	-101	-59	-1	-70	-213*	-12	-129
P值与Bsl <sup>†</sup> /与 美托洛尔 <sup>†</sup>	0.30	<0.001 /0.012	0.96	0.001 /0.015	0.34	0.30 /0.89 <sup>†</sup>	0.38	0.003 /0.066 <sup>†</sup>	0.72	0.021 /0.47

[0655] \*组内部变化的威尔科克森符号秩检验; †/组变化之间的威尔科克森秩和检验

[0656] ii) NT-proBNP

[0657] 在基线的第4、12和24周测量NT-proBNP,以评估该生物标志在预测结果(包括任何治疗效果)上的价值。给出基线和第4周的NT-ProBNP值。第12周和第24周的数据在实施例5D中,并在表28中。

[0658] 表11:NT-proBNP (pg/ml),中位数值

[0659]

参数	整体队列 (n = 267)		美国 (n=127)		加拿大 (n=59)		匈牙利 (n=33)		除匈牙利外的欧洲 (n = 48)	
	美托洛尔 123/133	布新洛尔 125/134	美托洛尔 62/67	布新洛尔 55/60	美托洛尔 26/27	布新洛尔 29/32	美托洛尔 14/15	布新洛尔 17/18	美托洛尔 21/24	布新洛尔 24/24
基线 平均值±SD	1343 ±1846	1159 ±1306	1499 ±2033	1245 ±1332	1646 ±2303	1314 ±1503	781 ±458	989 ±1428	883 ±880	893 ±849
基线中位数	861	777	982	904	913	790	785	567	521	600
第4周 平均值±SD	1212 ±1670	1196 ±2446	1227 ±1136	1501 ±3075	1715 ±3022	859 ±1135	812 ±524	1616 ±3522	820 ±876	756 ±1108
第4周 中位数	792	613	831	796	1067	499	803	594	433	431
Δ 第4周 平均值± SEM	-50 ±96	-0.4 ±166	-14 ±162	+182 ±332	-91 ±222	-455 ±197	-11 ±152	+461 ±576	-117 ±123	-72 ±139
Δ 第4周 中位数	-35	-96	-27	-75	-101	-184	-40	-47	-93	-108
P值与Bsl <sup>†</sup> /与 美托洛尔 <sup>†</sup>	0.32	0.003 /0.11 <sup>†</sup>	0.79	0.25 /0.58	0.48	0.003 /0.16	1.000	0.58 /0.66	0.31	0.17 /0.68

[0660] \*威尔科克森符号秩检验; †/威尔科克森符号秩和检验

[0661] 与美国相比,组合的治疗组的基线NT-proBNP值在匈牙利( $p=0.034$ )和在除匈牙利外的欧洲( $p=0.029$ )中较低。此外,匈牙利和除匈牙利外的欧洲都趋于低于加拿大( $p$ 值分别为0.12和0.13)。在第4周,在整体队列中,在布新洛尔组中观察到比基线显著降低,但在美托洛尔组中未观察到。在美国队列中,布新洛尔组发生了类似但非统计学显著的变化。在加拿大队列中,在布新洛尔组中观察到比基线显著降低,而在美托洛尔组中未观察到。

[0662] 在第12周时(表28),整体队列和加拿大队列再次证明,布新洛尔组而不是美托洛尔组的NT-proBNP显著降低,除匈牙利外的欧洲也是如此。在整体队列中,布新洛尔和美托洛尔组的基线变化差异接近统计学意义( $p=0.051$ )。

[0663] 在第24周,在整体队列和美国队列中,两个治疗组的NT-proBNP均显示出统计学上的显著降低,布新洛尔组的降低在数量上更大。在加拿大队列中,在布新洛尔组中观察到显著降低,达到统计学显著性( $-39\%$ ;  $p=0.057$ ),其比美托洛尔组高近三倍。

[0664] 尽管有证据表明美托洛尔或卡维地洛降低心肌NP基因表达,但在HFrEF中, $\beta$ -阻滞剂和美托洛尔<sup>46</sup>或布新洛尔<sup>47</sup>先前并未与全身性利尿钠肽(NP)水平降低相关。<sup>48,49</sup>AF可增加NT-proBNP或BNP水平,<sup>50-52</sup>但在并发AF的HFrEF中,BNP水平似乎更多地取决于左心室功能障碍的程度,而不是取决于是否存在AF。<sup>53</sup>表11、实施例5D和表28中的数据表明,在有AF复发风险的HFrEF患者中,与美托洛尔相比,布新洛尔治疗与循环NT-proBNP的减少有关,在治疗过程中减少的程度更大且更早。但是,NT-proBNP的降低与预防复发性AF/AFL的有效性似乎没有关联,因为加拿大患者在NT-proBNP的早期(在随访的第4周)降低最快,其相关的风险比为1.52(0.68, 3.43)(表8B)。另一方面,在24周随访期结束时,表现出持续良好的布新洛尔治疗效果和最高基线中位NT-proBNP值的美国患者群体是唯一一个在统计学上显著降低NT-proBNP的队列,降幅为33%,而美托洛尔为20%。

[0665] 总而言之,GENETIC-AF结果不支持使用NT-proBNP作为 $\beta$ -阻滞剂预防HFrEF患者AF的生物标志。在美国和匈牙利中,基线值的高低与随后的布新洛尔治疗响应有关,但加拿大的高基线值和欧洲(除匈牙利外)的低基线值与布新洛尔治疗效果呈相反的关系。NT-proBNP的系列变化似乎也没有有望作为预防AF/AFL的替代标志,因为在加拿大布新洛尔治疗组中,随机化的患者在所有时间点上NT-proBNP的降低最为稳定,但没有证据表明对复发性AF/AFL有良好的效果。

[0666] 7. 协变量中治疗效果、患者特征和治疗分配失衡的国家特异的异质性分析

[0667] 基于图5所示的结果,很明显,GENETIC-AF的结果显示了布新洛尔治疗效果的国家特异的异质性,在心力衰竭患者中进行的其他试验中也观察到了这种情况<sup>54-59</sup>,包括将 $\beta$ 阻滞剂与安慰剂进行比较的那些试验。<sup>58,59</sup>对于 $\beta$ 阻滞剂的研究,MERIT-HF<sup>58,59</sup>中的琥珀酸美托洛尔和COPERNICUS<sup>59</sup>中的卡维地洛在美国随机化的患者中均显示出较低的疗效。在这些试验中,并未就美国可能产生的钝化治疗效果提供合理的具体考虑,但作者得出结论,“应纳入按地理区域划分的预先确定的亚组分析”,并且应收集遗传和其他生物标志数据以告知生物学效果的任何差异。<sup>59</sup>此外,他们的评论“招募标准必须足够宽泛,以允许广泛参与,从而人口统计学反映真实群体,然而具有一定的特异性以确保招募真实的疾病患者”<sup>59</sup>被大多数临床试验者普遍接受。在GENETIC-AF中,选择进行分析的预定义地理区域是美国、加拿大和欧洲,研究群体是基于药物靶标进行药物遗传学选择的,并且以NT-proBNP和ADRA2C基

因型的形式收集了额外的生物标志信息(实施例2F iv)。此外,随机化前病例报告表确定了首次诊断为AF或心力衰竭的日期,从而允许确定每个诊断-随机化间隔。基于该信息,开发了一种度量,即诊断到随机化指数DTRI(表1和实施例6C),其可以确定临床过程是否由AF、HFrEF控制。该指数可能会影响潜在的病理生理学差异(2.6节)。

[0668] 尽管通常认为多中心试验中区域或国家特异的治疗效果差异是偶然的缘故,<sup>58,60,61</sup>但最近一项有关多国试验中区域异质性的权威综述得出结论“当一项随机化的临床试验显示不同国家的结果存在显著差异时,人们应该寻求支持性证据,以了解观察到的结果可能是真实的、是试验设计、分析或实施的人工产物,还是仅仅由于偶然”。<sup>60</sup>此外,当进行交互时同质性检验非常重要,例如匈牙利与美国的检验( $p=0.008$ ,图8,3iii)节,非随机差异的可能性会增加。<sup>60</sup>GENETIC-AF清楚地表明“国家间结果存在明显差异”,并且除标准收集和基线特征分析外,还具有对异质性分析的补充信息。

#### [0669] i) 基线特征的差异

[0670] 在先前的试验中,基线特征的差异可能是由于区域异质性导致的结果,<sup>54-57</sup>而在表2A显示的在匈牙利与美国或欧洲其他地区随机化的患者之间的一些差异表明了这种可能性。表12列出了可能影响GENETIC-AF结果的基线协变量。这些基线协变量是为随机化分层或亚组分析而预先定义的,其已经显示出先前会影响AF的发生率、心力衰竭的结果,或者在试验中显示出对风险比具有很大影响( $\geq 0.20$ )。

[0671] 表12:独立于欧洲其他地区的所有匈牙利地区患者的基线特征

参数	美国 N = 127	加拿大 N = 59	匈牙利 N = 33	除匈牙利外的欧洲 n = 48	P值*
年龄	66.3 ± 10.7	62.8 ± 9.8	67.5 ± 7.6	66.2 ± 9.9	0.074
性别 男/女(%)	87/13	86/14	70/30	73/27	0.034
LVEF	0.33 ± 0.09	0.35 ± 0.10	0.43 ± 0.08	0.40 ± 0.08	<0.001
NYHA I/II/III (%)	17/57/26	32/61/7	42/55/3	44/52/4	<0.001
Hx 缺血性/非缺血性HF (%)	31/69	29/71	36/64	35/65	0.840
AF/非AF中的随机化 (%)	59/41	58/42	30/70	33/67	0.001
Hx 持续性/阵发性AF (%)	52/48	53/47	48/52	48/52	0.950
AF Dx至随机化, 天	1236 ± 2192	1249 ± 1776	2734 ± 3527	580 ± 1077	0.002
HF Dx至随机化, 天	1627 ± 2306	919 ± 1557	562 ± 897	595 ± 1258	0.002
DTRI*	391 ± 2839	-330 ± 1954	-2172 ± 3647	14.1 ± 786	<0.001
sBP (mm Hg)	119.9 ± 15.7	121.8 ± 15.1	130.8 ± 11.8	128.8 ± 13.9	<0.001
dBp (mmHg)	73.8 ± 11.3	74.6 ± 9.5	79.0 ± 12.2	77.4 ± 9.2	0.035
心率, bpm	78.4 ± 19.4	75.9 ± 17.3	73.3 ± 15.4	73.3 ± 14.9	0.280
先前ECV (%)	55	46	61	31	0.019
先前AF消融(%)	17	10	64	15	<0.001
先前三级AAD(%)	47	34	58	60	0.031
装置类型: ILR/CRT/ICD/PM (%)	19/10/21/5	31/3/14/12	3/12/3/12	0/4/8/17	<0.001
去甲肾上腺素(pg/ml)	657 ± 373	656 ± 380	703 ± 270	715 ± 319	0.230
NT-proBNP (pg/ml)	1380 ± 1736	1471 ± 1911	895 ± 1091	888 ± 854	0.055

\*DTRI=从第一次HF诊断到随机化的时间(天)减去从第一次AF诊断到随机化的时间(DTRI, 诊断至随机化指数, 负值表示首先诊断为AF)(参见补充7.11.3中的图例)。注: 除非另有说明, 否则以平均值±标准偏差表示。  
†通过威尔科克森秩和检验或卡方检验的 $p < 0.05$ 。  
‡对组间异质性的检验是对连续变量的威尔科克森秩和检验和对分类数据的卡方检验。

[0673] 如表12所示,匈牙利的患者与其他地区随机化的患者在几个方面不同。随机化的



匈牙利患者具有:1) AF诊断和随机化之间的更长间隔;2) 更大的负DTRI,表明大多数患者在心力衰竭前几年都患有AF;3) 有导管消融和ECV病史的患者比例更高(如长期的AF患者所期望的那样);4) 较高的LVEF基线;5) 完全没有III类NYHA患者,并且;6) 更低的基线NT-proBNP水平。在加拿大随机化的患者也具有负的DTRI(平均为-330天),但不及匈牙利。否则,在加拿大招募的患者基线特征与美国和除匈牙利外的欧洲患者相似。总而言之,在匈牙利招募的患者的特征在于长期的AF诊断,这种诊断最初是在随机化前几年进行的,患者只在最近才出现心力衰竭症状(随机化前中值为99天),并且只有轻度LV功能障碍。尽管存在这些差异,但在匈牙利招募的患者仍符合该方案的进入标准。

[0674] ii) 可能的治疗组失衡

[0675] 在表征2期试验的小样本量中,协变量的失衡可能是治疗效果随机变化的潜在原因。<sup>62</sup>这种差异在大型试验中应得到平衡,但在较小的2期试验(如GENETIC-AF)中则可能无法平衡。为了评估可能影响各个国家或地区治疗组响应的变量分布,在预定义的、先前证实的或其他亚组中进行整体队列的分析,所述亚组可能影响HF<sub>r</sub>EF或AF事件中的β阻滞剂响应(表13)。

[0676] 表13:整体队列中的亚组分析有可能改变治疗效果,2期主要终点未经调整的分析

[0677]

亚组	美托洛尔事件率 (%)	布新洛尔事件率 (%)	风险比 (95% CI)
全部对象	70/133 (53%)	73/134 (54%)	0.96 (0.69,1.33)
年龄 > 66岁 <sup>†</sup>	35/62 (56%)	34/71 (48%)	0.75 (0.47,1.21)
性别女	11/25 (44%)	13/23 (57%)	1.22 (0.55,2.74)
随机化时的AF	51/69 (74%)	49/66 (74%)	0.91 (0.62,1.35)
随机化时的SR	19/64 (30%)	24/68 (35%)	1.13 (0.62,2.06)
随机化时的持续性AF	36/48 (75%)	32/45 (71%)	0.85 (0.53,1.37)
随机化时的SR/阵发性AF	34/85 (40%)	41/89 (46%)	1.09 (0.69,1.73)
FU开始时的SR	58/113 (51%)	64/122 (52%)	1.00 (0.70,1.43)
先前先ECV	34/67 (51%)	32/68 (47%)	0.82 (0.50,1.33)
先前导管消融	14/25 (56%)	12/25 (48%)	0.73 (0.34,1.59)
缺血性病因学	20/44 (45%)	18/42 (43%)	0.79 (0.42,1.50)
非缺血性病因学	50/89 (56%)	55/92 (60%)	1.02 (0.70,1.50)
LVEF < 0.39	35/68 (51%)	38/69 (55%)	1.02 (0.65,1.62)
LVEF ≥ 0.39	35/65 (54%)	35/65 (54%)	0.89 (0.56,1.43)
NYHA I	15/35 (43%)	15/40 (38%)	0.72 (0.35,1.48)
NYHA II/III	55/98 (56%)	58/94 (62%)	1.06 (0.73,1.54)
LVEF ≥ 0.39, AF Dx至随机化 > 321天 <sup>†</sup>	19/41 (46%)	17/30 (57%)	1.20 (0.62,2.31)
LVEF ≥ 0.39, AF Dx至随机化 ≤ 321天 <sup>†</sup>	16/24 (67%)	18/35 (51%)	0.65 (0.33,1.27)
LVEF ≥ 0.39时DTRI > -1天 <sup>†</sup>	10/16 (63%)	14/28 (50%)	0.71 (0.31,1.63)
心率 ≤ 74 <sup>†</sup> bpm	25/66 (38%)	32/70 (46%)	1.12 (0.66,1.90)
心率 > 74 <sup>†</sup> bpm	45/67 (67%)	41/64 (64%)	0.89 (0.58,1.35)
SBP ≤ 123 <sup>†</sup> mm Hg	40/69 (58%)	40/61 (66%)	1.18 (0.76,1.84)
SBP > 123 <sup>†</sup> mm Hg	30/64 (47%)	33/73 (45%)	0.82 (0.50,1.35)
去甲肾上腺素(pg/ml) ≥ 600 pg/ml <sup>†</sup>	37/62 (60%)	35/68 (51%)	0.81 (0.51,1.28)
NT-proBNP (pg/ml) ≥ 1131 pg/ml	27/43 (63%)	26/41 (63%)	0.87 (0.47,1.64)
2D6弱代谢者(PMs)	3/8 (38%)	8/12 (67%)	2.19 (0.58,8.30)

\*DTRI=从第一次HF诊断到随机化的时间(天)减去从第一次AF诊断到随机化的时间  
(DTRI, 诊断至随机化指数, 负值表示首先诊断为AF)(见实施例6C的图例)。†中间值; ‡较高三分位边界

[0678] 表14按区域列出了表13中确定的一些可能影响AF复发或β阻滞剂响应的协变量,这些协变量有可能改善(表12中的风险比 ≤ 0.85)或恶化(表12中的风险比 ≥ 1.15)布新洛尔的治疗作用。

[0679] 表14:按地区或国家和治疗组分布的协变量,这些协变量可能会影响β阻滞剂响

应、AF发生率或普遍的心力衰竭治疗效果

[0680]

参数	美国		加拿大		匈牙利		Europe excluding 匈牙利	
	美托洛尔 N=67	布新洛尔 N=60	美托洛尔 N=27	布新洛尔 N=32	美托洛尔 N=15	布新洛尔 N=18	美托洛尔 N=24	布新洛尔 N=24
年龄>66岁, (%)	46	50	48	38	67	72	33	67
性别, F (%)	13	13	11	16	47	17	25	29
随机化时的持续性AF, (%)	54	50	48	56	53	44	46	50
先前ECV, (%)	55	55	44	47	73	50	25	38
先前消融, (%)	19	13	7	13	67	61	8	21
LVEF	0.33 ±0.09	0.35 ±0.10	0.36 ±0.10	0.35 ±0.10	0.44 ±0.08	0.42 ±0.08	0.42 ±0.07	0.39 ±0.09
LVEF ≥0.39 且AF Dx 到随机分组 > 321天 <sup>†</sup> , (%)	21	18	26	16	87	50	29	21
DTRI <sup>†</sup> , 天	323 ±2924	467 ±2764	102 ±1638	-694 ±2143	-2492 ±4235	-1905 ±3177	-154 ±470	182 ±991
DTRI < -30天(%)	30	27	30	44	80	56	29	38
NYHA I/II/III (%)	13/55/31	20/60/20	26/59/15	38/63/0	40/53/7	44/56/0	54/46/0	33/58/8
缺血性病因学, (%)	34	28	33	25	27	44	33	38
中位数 sBP ≤ 123 mmHg, (%)	63	52	59	53	33	22	25	38
NE (pg/ml)	664 ±386	650 ±362	674 ±429	642 ±341	627 ±258	767 ±270	675 ±250	753 ±375
NT-proBNP (pg/ml)	1499 ±2033	1245 ±1332	1646 ±2303	1314 ±1503	781 ±458	989 ±1428	883 ±880	893 ±849
饮酒(%)	55	59	37	56	47	50	54	57
第0天时的失效ECV, (%)	18	9	0	21	25	33	25	0
2D6 PM, (%)	11	7	0	16	0	6	4	10
*诊断(Dx)至随机化(RND)指数=(HF Dx至Rnd间隔-AF Dx至Rnd间隔); 负值表示AF Dx在HF Dx前发生, 指数#为>-1天 (表示在HF同时或之后诊断出AF), LVEF≥ 0.39。 注: 除非另有说明, 否则以平均值±标准偏差表示。								

[0681] 表14中列出的协变量在治疗组之间的分布相当平均,除加拿大外,其次是匈牙利。例如,在加拿大,布新洛尔组的DTRI为-694天,而美托洛尔组的正DTRI为102天。尽管由于DTRI测量值差异较大,没有统计学意义(p=0.41),但这意味着加拿大的布新洛尔患者在诊断为心力衰竭之前平均约两年具有AF,而美托洛尔组为他们的心力衰竭诊断在AF诊断之前102天。2D6弱代谢者(PM)变体,其与布新洛尔血浆浓度明显较高(2.5.9.4节)相关且风险比为2.57(95% CI:0.49、13.6;经调整)和2.19(95% CI:0.58、8.30;未经调整),在加拿大,分布为布新洛尔组中5个PM,而美托洛尔组中无分布(p=0.056)。按治疗组划分,没有其他国家的PM失衡。

[0682] 在布新洛尔组中,加拿大的酒精使用者(已知的AF风险因素)百分比也较高(56%与美托洛尔37%,p=0.014)。在加拿大的布新洛尔组中,有4例患者在第0天时的ECV失败,这意味着它们的终点不是转复至窦性心律,而美托洛尔组中没有患者ECV失败(p=0.11)。

[0683] 相比之下,在美国随机化的患者对布新洛尔没有重大失衡。如表11所述,在匈牙利

随机化的患者明显不同,但治疗组之间没有明显的失衡。除匈牙利外的欧洲也很平衡,不同之处在于布新洛尔组中>66岁的患者是两倍( $p=0.021$ )。

#### [0684] 8. 安全性

[0685] i) 研究药物暴露的概要几乎所有随机化的患者均接受过 $\beta$ 阻滞剂治疗(92.9%)。美托洛尔(琥珀酸盐或酒石酸盐)是先前最常见的(42.7%) $\beta$ 阻滞剂,其次是比索洛尔(28.5%)和卡维地洛(19.5%)。与美托洛尔治疗组相比,布新洛尔治疗组先前接受美托洛尔治疗的患者比例较小(分别为37%和48%),接受比索洛尔治疗的患者比例较大(分别为33%和24%),接受卡维地洛治疗的患者比例相似(分别为21%和18%)。

[0686] 研究药物的初始剂量是基于患者在随机化之前正在接受的商业 $\beta$ 阻滞剂的剂量。几乎所有患者(97%)均接受三种较低剂量水平之一作为研究药物的初始剂量。这些对应于M25B625(即34%美托洛尔25mg qd和26%布新洛尔6.25mg bid)、M50B125(即29%美托洛尔50mg qd和34%布新洛尔12.5mg bid)和M100B25(即34%美托洛尔100mg qd和37%布新洛尔25mg bid)。另外8例患者的初始研究药物剂量为M200B50(即4%美托洛尔200mg qd和2%布新洛尔50mg BID)。

[0687] 研究药物的依从性良好(两组均约为92%),其中与美托洛尔组(72%)相比,布新洛尔组(84%)向上滴定至目标剂量的患者略多。布新洛尔和美托洛尔组中的大多数患者在第42天达到研究药物的目标剂量(分别为77%和63%),并且大约有一半的患者在疗效随访期开始之前达到研究药物的目标剂量(分别为51%和47%)。

[0688] 在第42天,布新洛尔组中相对体重进行归一化的研究药物的平均日剂量(即mg/kg)比美托洛尔组略高(分别为1.8mg/kg和1.6mg/kg)。患者被基因分型,并且在第42天,对于美托洛尔组和布新洛尔组的研究药物的平均日剂量,鉴定为CYP2D6弱代谢者的患者(分别为1.1mg/kg和1.4mg/kg)与鉴定为CYP2D6强代谢者的患者(分别为1.9mg/kg和1.7mg/kg)相比均略低。

#### [0689] ii) 安全性的总体概要

[0690] 表15显示了整体药物研究期间的治疗紧急的不良事件的总体概要。

[0691] 表15: 整体研究期间治疗紧急的不良事件的总体概要

终点	美托洛尔 (N=133)	布新洛尔 (N=134)
任何不良事件	95 (71.4%)	100 (74.6%)
不良事件-可能/很可能与研究药物有关	40 (30.1%)	32 (23.9%)
导致永久性研究药物中止的不良事件	11 (8.3%)	11 (8.2%)
[0692] 导致研究取消的不良事件(不包括死亡)	2 (1.5%)	2 (1.5%)
导致死亡的不良事件	3 (2.3%)	3 (2.3%)
与肿瘤相关的不良事件	9 (6.8%)	3 (2.2%)
任何严重不良事件	27 (20.3%)	34 (25.4%)
呈现了总药物研究周期的数据, 该周期始于随机化之日并一直持续到研究治疗的最终剂量后的第30天。		

[0693] 在研究期间经历出现1次AE的患者比例在布新洛尔和美托洛尔组中相似。与美托洛尔组相比,研究者认为布新洛尔组的可能或很可能与药物有关的AE稍低,与肿瘤事件有



关的AE也略低。与美托洛尔组相比,在研究期间布新洛尔组中经历至少1次SAE的患者比例略高。但是,两个治疗组的患者中,具有导致永久研究药物中止的AE、导致研究取消的AE和导致死亡的AE的患者的比例相似。

[0694] iii) 向上滴定期间的安全性

[0695] 表16显示了药物滴定期间与安全相关的终点的概要。

[0696] 表16: 滴定安全终点

终点	美托洛尔 (N=133)	布新洛尔 (N=134)
任何严重的不良事件	10 (8%)	8 (6%)
与治疗有关的严重不良事件	0 (0%)	1 (1%)
与治疗有关的心血管严重不良事件	0 (0%)	0 (0%)
全因住院治疗	9 (7%)	7 (5%)
心血管住院治疗	4 (3%)	5 (4%)
心力衰竭住院治疗	4 (3%)	1 (1%)
症状性心动过缓	3 (2%)	2 (1%)
非症状性心动过缓	4 (3%)	0 (0%)
全因死亡率	1 (1%)	0 (0%)
AC死亡率或CV住院治疗或由于AE的治疗中止	6 (5%)	5 (4%)
注: 滴定定义为初始随机研究治疗给药后的前42天。每个终点对患者计数一次。选择具有SAE和相关CRF的作为严重的与治疗相关的SAE		

[0697] 在两个治疗组中,药物滴定期间的安全终点相似,尽管与美托洛尔组相比,布新洛尔组的大多数终点在数值上都较低。布新洛尔和美托洛尔组中的大多数患者在药物滴定期结束时达到研究药物的目标剂量(分别为77%和63%)。

[0698] iv) 总随访期间的不良事件

[0700] 表29显示了任何治疗组中出现频率 $\geq 3\%$ 的治疗紧急事件AE。在布新洛尔组和美托洛尔组中,研究中经历至少1次AE的患者比例相似(分别为74.6%和71.4%)。与美托洛尔组相比,布新洛尔组的频率 $\geq 3\%$ 的常见AE和布新洛尔组的频率 $\geq 1\%$ 的常见AE为:便秘(6.0%和1.5%)、低镁血症(3.0%和0.0%)、鼻出血(3.0%和0.0%)、血尿(3.0%和0.0%)、肺炎(3.0%和0.8%)、慢性肾脏病(3.0%和0.8%)、低血压(9.7%和7.5%)、上呼吸道感染(6.0%和4.5%)、心力衰竭(5.2%和3.8%)和关节痛(5.2%和3.8%)。

[0701] 与美托洛尔组相比,布新洛尔组的频率 $\geq 3\%$ 和布新洛尔组的频率 $\geq 1\%$ 的系统器官类别(SOC)的AE数据的较高水平检查为:肌肉骨骼和结缔组织障碍(25.4%和15.0%)、感染和侵染(28.4%和21.8%)、呼吸系统、胸部和纵隔障碍(15.7%和10.5%)、研究者(12.7%和7.5%)、眼病(6.0%和3.0%)、胃肠道障碍(20.9%和18.0%)、代谢和营养障碍(14.2%和12.0%)以及肝胆障碍(3.7%和2.3%)。值得注意的是,布新洛尔组和美托洛尔组中类似比例的患者经历了肾和泌尿系统障碍(10.4%和9.8%)和心脏障碍(25.4%和26.3%)的SOC;然而,与美托洛尔组相比,布新洛尔组的患者经历良性、恶性和未指明肿瘤的SOC比例较低(2.2%和6.8%)。

[0702] 在布新洛尔组和美托洛尔组中,整个研究中经历至少1次严重不良事件(SAE)的患者比例相似(分别为25.4%和20.3%) (补充7.7,表30)。在任何治疗组中,频率 $\geq 3\%$ 的唯一SAE是充血性心力衰竭(5.3%和2.2%)和心力衰竭(3.0%和2.3%)。与美托洛尔组相比,布



新洛尔组中频率 $\geq 3\%$ 和布新洛尔组中频率 $\geq 1\%$ 的SOC的SAE数据的较高水平检查为：呼吸系统、胸部和纵隔障碍(5.2%和1.5%)、感染和侵染(4.5%和3.0%)以及肾和泌尿系统障碍(3.0%和1.5%)。

[0703] 实施例5E、表31、32、33和34分别给出了选定的心血管事件、心动过缓事件、潜在的节律相关事件和收缩压或心率数据。两个治疗组之间的可能差异并不常见,包括美托洛尔组有更多的心动过缓事件(表31、32)、布新洛尔组有更多的冠心病事件和导管插入术(表33)以及美托洛尔在第4、12和24周降低更多心率(表34)。

[0704] 值得注意的是,在全面随访期间,该试验中未发生中风(表33),其中99%的患者接受口服抗凝剂(表1)。美托洛尔组的一名患者经历了TIA(表33)。这些数据证明了试验研究人员提供的出色护理以及临床监测的质量。

[0705] v) CYP2D6遗传变异对药物水平、疗效和安全性的影响

[0706] 基于FDA的相互作用和建议,<sup>63</sup>发明人试图对GENETIC-AF中每位患者的CYP2D6遗传变异进行分类。在267名随机化的患者中,有255名在技术上有足够的2D6基因分型。表17描述了四个主要的2D6变体类别(实施例6D中的方法),包括多态性分布N(%)、主要终点事件率和风险比、心脏AE和药物剂量。

[0707] 表17:255名GENETIC-AF患者的CYP2D6遗传变异和主要终点(1EP)、AE数据

[0708]

CYP2D6 变异体	N (%)	调整过的/未调整过的风险比	1EP事件 (比率)	心脏AE*	第12周剂量	
					mg/kg/d	mg/d
弱代谢者(PM)	20 (7.8%)	—	11 (55%)	7 (35%)	—	—
美托洛尔	8	2.57 (0.49, 13.6)	3 (38%)	4 (50%)	1.13 ±0.89	110 ±88
布新洛尔	12	2.19 (0.58, 8.30)	8 (67%)	3 (25%)	1.39 ±0.94	124 ±83
中等代谢者(IM)	19 (7.5%)	—	9 (47%)	3 (16%)	—	—
美托洛尔	10	0.34  (0.04, 3.10)	7 (70%)	3 (30%)	1.63 ±0.86	157 ±73
布新洛尔	9	0.24 (0.05, 1.18)	2 (22%)	0 (0%)	1.72 ±0.84	157 ±73
强/超快代谢者(EM/UM)*	216 (85%)	—	119 (55%)	58 (27%)	—	—
美托洛尔	111	1.01 (0.69, 1.48)	58 (52%)	27 (24%)	1.95 ±0.65	180 ±47
布新洛尔	105	1.01 (0.70, 1.45)	61 (58%)	31 (30%)	1.72 ±0.51	165 ±54
总计	255	—	139 (55%)	68 (27%)	—	—
美托洛尔	129	1.04 (0.73, 1.48)	68 (53%)	34 (26%)	1.87 ±0.70	173 ±54
布新洛尔	126	0.98 (0.71, 1.37)	71 (56%)	34 (27%)	1.70 ±0.59	161 ±58
P值M与B. 2D6变量 分布P = 0.67	—	—	—	—	—	—

\*包括具有CYP2D6超快代谢者基因型的2名患者

[0709] 如表17和实施例5F中的表35所示,CYP2D6弱代谢者(PM)的心脏AE发生率在数值上而非统计学上( $p=0.39$ )比中等代谢者(IM)或强代谢者(EM)高(分别为35%与16%(IM)和27%(EM))。这些AE由心力衰竭或心动过缓事件组成,其美托洛尔组更为丰富(50%与25%,超过的部分是由于心动过缓AE3(38%)引起的,而在布新洛尔PM组则没有)。在布新洛尔治疗的患者中,PM(75.0%的发生率)和EM(77.1%,表36)之间的总AE并无差异。对于美托洛尔,PM的总AE率在数值上较高(87.5%与72.1%),但无统计学意义( $p=0.34$ )。这些变体对联合治疗组事件率没有明显影响。如表17所示,就主要终点事件率而言,PM中布新洛尔的发生率最高(67%与总体占56%),而IM中美托洛尔的事件发生率最高,为70%与总体占53%。美托洛尔的最低事件率发生在PM变异体中(38%),而布新洛尔在IM中事件率最低(22%)。对于风险比,PM的值最高(2.19(0.58, 8.30)未调整),IM的值最低(0.24(0.05, 1.18)(表17)。美托洛尔和布新洛尔在PM中事件率分别是低和高,而在IM中则相反(表17)。除PM(IM+EM+UM)以外的所有2D6基因型的风险比为0.92(0.65, 1.38),相互作用p值与PM的关系为0.18。

[0710] 鉴于2期主要终点的PM风险比 $>2.0$ ,而布新洛尔在PM组的事件率较高(67%,表

17), 因此在治疗组中观察了与心力衰竭相关的终点事件率, 其中包括或不包括PM(表37)。在评估的8个终点(24周或完整的随访期内各4个)中, 从分析中除去PM导致8个类别中的6个类别的事件率轻微下降(下降1%), 而在5个类别中, 布新洛尔事件率没有变化, 在除去PM的三个终点中上升了1%。因此, 没有证据表明布新洛尔在PM中对心力衰竭的作用或对心脏AE的任何不良作用均不起作用。

[0711] 以mg/kg或mg/kg为基准, 美托洛尔和布新洛尔的PM均较低, 相比布新洛尔占总体/总剂量的82% (mg/kg) 和77% (mg/天), 美托洛尔更低(占总体/总剂量的60% (mg/kg) 和64% (mg/天))。美托洛尔组剂量的更大降低可能是由于美托洛尔PM中心动过缓的发生率更高。

[0712] 表18列出了198位GENETIC-AF患者(具有2D6基因型)在12周时测得的群体PK研究药物的血浆谷水平。还给出了人 $\beta_1$ -肾上腺素能受体(AR)的受体占有率, 其中布新洛尔的 $K_D$ (占用率公式中的 $K_A$ )值为3.6nM、美托洛尔的 $K_D$ 值为45nM。<sup>64</sup>这些计算中使用的假设包括心肌膜浓度=血浆浓度并且未考虑去甲肾上腺素等竞争配体的影响。尽管在GENETIC-AF(表17)中和先前的HFREF试验中, 布新洛尔和琥珀酸美托洛尔的剂量相似, 但琥珀酸美托洛尔的生物利用度较高(约50%<sup>65</sup>), 而布新洛尔<sup>66</sup>的生物利用度约为30%, 这导致美托洛尔血浆水平在EM(高9.2倍,  $p < 0.0001$ )和IM(高5.5倍,  $p = 0.003$ )中更高, 而PM(1.3倍,  $p = 0.53$ )则没有升高(表18)。在所有三种2D6变体中, 布新洛尔的估计 $\beta_1$ -AR占用率相似(85%至99%), 但在EM中几乎相同(布新洛尔为85.2%, 美托洛尔为86.4%), 在IM中布新洛尔略高(94.6%, 美托洛尔为91.2%), 并且由于PM中的布新洛尔血浆浓度较高, 因此该2D6变体的解离程度更高(布新洛尔为99.0%, 美托洛尔为93.4%)。在PM中, 布新洛尔的血浆浓度是17.4倍 $>EM$ ( $p < 0.0001$ )和5.7倍 $>IM$ ( $p = 0.013$ )。相反, 美托洛尔PM浓度仅为2.4倍 $>EM$ ( $p = 0.028$ ), 与IM相比在统计上有差异(高1.3倍,  $P = 0.88$ )。显然, 从EM或IM至PM布新洛尔血浆浓度升高远大于美托洛尔PM与EM或IM相比的水平。在第4周的随访中获得了布新洛尔的相似结果及其与美托洛尔水平的关系, 其中IM中美托洛尔PM水平高于PM(实施例5F、表38)。因此, 与美托洛尔相比, PM 2D6基因型似乎与布新洛尔血浆水平更大的相对增加有关。

[0713] 表18: 布新洛尔(B)和美托洛尔(M)血浆浓度和人 $\beta_1$ -肾上腺素受体(AR)占用率、疗效随访第12周时的2D6基因变体

CYP2D6变异体 (N)	布新洛尔血浆浓度, ng/ml		P值与PM	美托洛尔血浆浓度, ng/ml		P值与PM	P与布新洛尔, w/变异体
	平均值	中位数		平均值	中位数		
EM (82) B (85) M	8.3 ± 14.2	3.1	<0.0001	76.5 ± 93.8	56.5	0.028	<0.0001
IM (7B, 8M)	25.4 ± 25.6	11.1	0.013	142.9 ± 66.0	140	0.88	0.003
PM (11B, 5M)	144.2 ± 120.4	113	-	185.4 ± 156.7	126	-	0.53

布新洛尔  $\beta_1$ -AR受体占有率,  $y = [A]/(K_A + [A])$  其中 $K_A$ =针对人 $\beta_1$ -AR的布新洛尔解离常数 (3.6nM)  
[A] = 摩尔血浆浓度: EM: 85.2%; IM, 94.6%; PM, 99.0%  
美托洛尔  $\beta_1$ -AR受体占有率( $K_A = 45$  nM): EM, 86.4%; IM 91.2%; PM, 93.4%

[0715] 表17、表18和第7.8.4节中包含的数据是在心血管比较有效性试验中 $\beta$ 阻滞剂血浆

水平、CYP2D6基因型、安全性和疗性的首次比较。它们支持以下结论：1) 与美托洛尔相比，PM基因型表现出对于布新洛尔代谢的CYP2D6代谢功能更大的损失；2) PM和EM中的布新洛尔血浆浓度显著增加(增加17倍)且没有伴随AE的增加，而是与统计学上非显著的较高风险比相关，从而增加了较高药物水平对布新洛尔有效性影响的可能性。布新洛尔对ADRB1Arg389Arg基因型选择性/增强作用的作用机理被认为是通过对 $\beta_1$ -AR和 $\beta_2$ -AR(化合物中NE降低的可能机制，且对 $\beta_1$ -AR没有有效影响)的高(低nM Ki)亲和力拮抗作用。在PM中，在200nM至500nM范围内的高药物水平有望占据“脱靶”受体、通道和其他生物结合位点。然而，与EM相比，在PM中的布新洛尔的去甲肾上腺素降低并无不同，因此并不涉及 $\alpha_{2C}$ 或 $\alpha_1$ -AR的占有率对抗交感神经阻滞的反作用， $\alpha_{2C}$ 或 $\alpha_1$ -AR均抑制心脏交感神经传递。当然，在PM组中，20名患者中总共有N名患者，布新洛尔的风险比很可能是一个偶然的发现。

[0716] E. 确定响应迟钝的群体

[0717] BEST试验<sup>12,13</sup>中首先从患有严重LV功能障碍(平均LVEF  $0.23 \pm 0.07$ )的晚期HF<sub>rEF</sub>(92% III类NYHA和8% IV类NYHA)群体中确定了布新洛尔的AF预防作用，该群体在随机化时由于晚期心力衰竭(n=2392)或永久性AF(n=303)会增加发展AF的风险。

[0718] 如表1所示，GENETIC-AF群体主要患有轻度心力衰竭(85% I类/II类NYHA)和仅患有中度LV功能障碍(平均LVEF  $0.36 \pm 0.10$ ，中位数0.39)。这些患者由于处于AF状态且在随访开始时需要ECV或在过去180天内发生AF，因此发展AF的风险也高得多。因此，BEST是晚期心力衰竭、严重的LV功能障碍、中度AF的风险群体，而GENETIC-AF是在轻度-中度心力衰竭、中度LV重塑/功能障碍和发展复发性AF的高风险群体中进行的。除了这些研究群体的差异外，BEST以安慰剂作为对照，而GENETIC-AF是针对具有有效预防AF活性的 $\beta$ 阻滞剂的比较有效性试验<sup>13</sup>。最后，GENETIC-AF患者均为ADRB1Arg389Arg基因型，而就BEST整体队列AF预防数据<sup>13</sup>而言，约48%的患者具有该基因型。

[0719] GENETIC-AF试验包括一个病例报告表，该报告表收集了心力衰竭和AF的诊断日期。表19给出的这些数据用于计算“诊断到随机化指数”DTRI(图17)。

[0720] 表19：从首次AF(AF<sub>天</sub>)或心力衰竭(HF, HF<sub>天</sub>)的诊断到随机化的天数、和HF<sub>天</sub>-AF<sub>天</sub>的值(DTRI, 诊断到随机化指数, 负值表示首先诊断为AF(补充7.11.2))

队列 (n)	AF Dx到随机化(天)		HF Dx到随机化(天)		HF Dx - AF Dx (DTRI, 天)		
	平均值	中位数	平均值	中位数	平均值	中位数	P值与美国*
整体队列 (267)	1306	338	1153	203	-153	-1.0	-
美国 (127)	1236	366	1627	566	391	0	-
[0721] 加拿大 (59)	1249	230	919	170	-330	-6.0	0.024
匈牙利 (33)	2734	1498	562	99	-2172	-1037	<0.0001; (0.01 与加拿大)
波兰 (23)	494	256	583	311	89	0	0.590
塞尔维亚(21)	338	138	157	112	-180	-1.0	0.175
荷兰(4)	2354	1383	2924	2584	570	-50	-
*威尔科克森秩和							

[0722] 与美国和加拿大(每个约3.4年)、塞尔维亚(约0.9年)和波兰(1.3年)相比,匈牙利的AF诊断和随机化之间的平均持续时间(约7.5年)明显突出。对于HF诊断到随机化的平均时间间隔,匈牙利、波兰和塞尔维亚的间隔最短,为0.4年(塞尔维亚)至1.6年(波兰);而美国大约高三倍(4.5年)。这些数据自然会导致DTRI出现重大差异( $HF_{天} - AF_{天}$ ),这是对AF诊断是否HF诊断、以及差异有多大的量度。

[0723] DTRI的主要异常值是匈牙利,平均值为-5.95年。这意味着匈牙利的患者在进入试验之前具有AF和AF治疗多年,此时他们仅有最小的LV功能障碍(表2A),平均LVEF为 $0.43 \pm 0.08$ ,18名患者中只有1名有III类心力衰竭。尽管它们均符合方案进入标准,但匈牙利研究群体的最佳特征是具有长期的AF且仅出现轻度或偶发的HFmrEF,而此前尚未研究过布新洛尔数据或实际上尚未研究过其他 $\beta$ -阻滞剂的治疗作用。

[0724] 与继发AF的HF<sub>r</sub>EF<sup>70</sup>相比,最终导致LV功能障碍和心力衰竭的长期AF具有非常不同的病理生理<sup>67-69</sup>。简而言之,长期AF的病理生理学是由心房和心室纤维化和肥大的MAP激酶和TGF信号传导<sup>67,71,72</sup>驱动的。<sup>68,72,73</sup>相反,HF<sub>r</sub>EF的病理生理学是由心室<sup>32,70</sup>和较少程度下心房<sup>73</sup>的病理性偏心肥大和收缩功能障碍的神经激素信号传导<sup>32,70</sup>驱动的,在大多数情况下,纤维化信号传导最少。<sup>74</sup>

[0725] 加拿大也有一个较大的负DTRI,其-0.9年(平均值)的指数与美国有显著差异( $p < 0.024$ )。如补充7.9、表39所示,匈牙利和加拿大都有主要的电生理专家(EP)PI,他们将这些地区的大约80%的患者随机化,其中没有心力衰竭专家,也没有(匈牙利)或很少(加拿大)一般的心脏病专家PI。另一方面,美国几乎每一个地方都有医生作为PI或Co-PI护理心力衰竭患者,他们使用在其他试验中开发的EP心力衰竭专家Co-PI模型,如MIRACLE<sup>75</sup>和COMPANION。<sup>76</sup>尽管DTRI是负的且EP IP在加拿大占优势,但患者基线特征与美国和除匈牙利外的欧洲相似(表1和表2A)。一个差异是III类心力衰竭的患者比例,尽管LVEF相似(分别为 $0.35 \pm 0.10$ 和 $0.34 \pm 0.09$ ),加拿大的患者比例为4/59(7%),而美国的患者比例为33/127(26%)。此外,在加拿大随机化的患者往往具有较低的基线NE水平(表10),并且与所有其他国家相比,在加拿大队列中,布新洛尔在第4周并未降低平均NE血浆浓度。试验指导委员会



主席(Stuart Connolly)和加拿大国家PI/SC成员(Jeff Healey)是EP,但他们非常了解心力衰竭表型的病理生理学倾向,因此,加拿大的患者概况与匈牙利很不相同且更接近美国特征是不出人意料的。总而言之,GENETIC-AF中随机化的加拿大患者在心力衰竭之前被平均诊断为AF,但不及匈牙利那样严重,并且患有中度LV功能障碍,但基于中位数值的心力衰竭症状可能伴有较低水平的排除了布新洛尔的交感神经阻滞作用的肾上腺素能激活。

[0726] 根据这些观察结果,得出结论,正DTRI值是鉴定AF-HFrEF患者的简单方法,所述患者的病理生理学以HFrEF机制为特征,包括肾上腺素激活,类似于BEST试验中所研究的患者,而不是以AF病理生理学为主的患者。

[0727] 表20包含的数据用于分析在所有对象以及LVEF低于或高于0.39的基线中位数的患者中DTRI间隔的方向性和持续时间对布新洛尔治疗效果的影响。

[0728] 表20:整体队列(EC)和美国患者中所有LVEF及LVEF中位数高于或低于0.39的四分位DTRI值

[0729]

LVEF 分类	队列	全部患者 /DTRI	Q1: -15251 到-311天	Q2: -310到 -1天	Q3: 0到 +44天	Q4: +45到 +9533天
<b>LVEF &lt;0.39</b>						
美托洛尔 事件比率	EC	35/68 (51%)	4/6 (67%)	10/17 (59%)	8/22 (36%)	13/23 (57%)
	美国	25/46 (54%)	3/5 (60%)	7/10 (70%)	5/15 (33%)	10/16 (63%)
布新洛尔 事件比率	EC	38/69 (55%)	11/16 (69%)	6/14 (43%)	8/15 (53%)	13/24 (54%)
	美国	17/35 (49%)	5/6 (83%)	2/6 (33%)	3/7 (43%)	7/16 (44%)
风险比 (CI)	EC	1.02 (0.65,1.62)	0.83 (0.26,2.69)	0.51 (0.18,1.42)	1.70 (0.64,4.53)	0.92 (0.42,1.98)
	美国	0.80 (0.43,1.50)	1.18 (0.26,5.29)	0.43 (0.09,2.10)	1.62 (0.39,6.82)	0.57 (0.22,1.50)
<b>LVEF ≥0.39</b>						
美托洛尔 事件比率	EC	35/65 (54%)	11/26 (42%)	14/23 (61%)	4/6 (67%)	6/10 (60%)
	美国	15/21 (71%)	4/7 (57%)	6/9 (67%)	1/1 (100%)	4/4 (100%)
布新洛尔 事件比率	EC	35/65 (54%)	11/19 (58%)	10/18 (56%)	11/19 (58%)	3/9 (33%)
	美国	16/25 (64%)	4/5 (80%)	5/8 (63%)	4/6 (67%)	3/6 (50%)
风险比 (CI)	EC	0.89 (0.56,1.43)	1.52 (0.66,3.51)	0.63 (0.28,1.42)	0.83 (0.26,2.66)	0.48 (0.12,1.92)
	美国	0.57 (0.28,1.16)	1.04 (0.26,4.21)	0.54 (0.16,1.80)	0.70 (0.07,6.83)	0.35 (0.08,1.58)

[0730] 表20中的前三行数据包含LVEF<0.39患者的四分位数的DTRI数据,而第一四分位数(Q1)指示在心力衰竭诊断之前至少311天最初诊断出AF。对于LVEF<0.39,在整体队列(EC)数据或美国数据中通过四个四分位筛查显示没有发现随着DTRI变得更正而提高风险比的模式。另一方面,在LVEF≥0.39的患者中,DTRI值越来越正的风险比模式似乎有所不同。在Q1中,整体队列和美国的危险比均>1.0,然后随着DTRI变得更正,在Q2至Q4中风险比

降至1.0以下。

[0731] 这些数据虽然以每个四分位池中相对较少的事件和患者为基础,但与HF<sub>rEF</sub>病理生理学驱动的LVEF<0.39的心房-心室病理结构相符,而LVEF≥0.39时由AF病理生理学驱动,此时AF诊断早于HF。这些观察结果使得能够准确地探究在≥0.39LVEF的亚组中,AF可以在HF前多久首次发生,且不影响治疗效果。对于≥0.39LVEF的亚组,评估了下限为-730天至0天、上限为+9533天的DTRI间隔,如表21所示。

[0732] 表21: -DTRI (天) 值与2期主要终点风险比 (HzR) 之间的关系,对象群体的LVEF≥0.39,其中下限DTRI值为≤730天至≤0天,上限为9533天(数据集中最正的DTRI)

DTRI 下限*	≤ -730	≤ -365	≤ -180	≤ -90	≤ -60	≤ -30	≤ 0
风险比 (95% C.I.)	0.73 (0.41,1.27)	0.61 (0.34,1.09)	0.69 (0.38,1.24)	0.65 (0.36,1.19)	0.58 (0.31,1.11)	0.54 (0.28,1.03)	0.56 (0.16,1.92)
比率†	-23.4%	-8.2%	-18.8%	-13.8%	-3.4%	+3.7%	-
*上限= +9533天; †1-(≤0时的风险比/≤-730或其他间隔时的风险比) x 100; 分配给>0.56的风险比(≤0 风险比)负值, 分配给<0.56的风险比正值。							

[0734] 表21中的数据表明,从-29天到+9533天的DTRI间隔开始,随着下限变得更负,布新洛尔的治疗作用减弱。表20中的数据表明,整体队列的LVEF≥0.39Q1 DTRI间隔风险比为1.52(0.66,3.51),而Q2间隔的风险比为0.63(0.28,1.42)。这些数据支持这样的结论,即在轻度LV重塑/功能障碍中,HF之前的AF诊断≤310天(Q1/Q2界限)与在DTRI<-310中更有利的布新洛尔治疗效果相关,并且在-310至-1天的DTRI间隔内,最多-29天的间隔伴随着有效性的逐步提高。

[0735] 图10给出了除去LVEF≥0.39且DTRI<-30天的研究群体中事件数据的2期主要终点时间。对于整体队列,除去长期AF/轻度LV功能障碍的患者,将保留原始整体队列的77%和美国群体的85%。实施例5H、表40列出了每个国家通过此分析除去的患者数量,范围为15%(美国)至61%(匈牙利),总体为23%。在提议的3期试验(第4.1.1.1节)中,一个进入标准是排除DTRI≤-30天的LVEF为0.40至0.49的患者

[0736] F. 结果解释

[0737] 2B期药物开发试验的目标可能有几个,包括1) 建立安全有效的剂量方案;2) 确定是否存有功效信号的证据;3) 收集有关安全性的证据;4) 寻找可能具有有利或不利有效性反应的亚组证据,为3期试验设计提供信息。

[0738] 认为所有这些目标都是通过GENETIC-AF试验实现的:(i) 尽管先前在多中心2期试验中确定了布新洛尔在HF<sub>rEF</sub>中的目标剂量,然后在BEST<sup>14</sup>中得到了确认,但在GENETIC-AF中,首次在心力衰竭中进行对照β-阻滞剂临床有效性试验,以测量每位患者的CYP2D6基因变体和药物水平,该试验提供了证据,表明CYP2D6弱代谢者应考虑减少布新洛尔(和美托洛尔)的剂量(PM,第8iv)节和以下CYP2D6基因分型);(ii) 美国患者、AFB亚研究以及心力衰竭之前具有最小/轻度LV功能障碍和长期AF的患者以外的患者的结果提供了功效信号与活性对比剂琥珀酸美托洛尔的证据;(iii) 安全性可与琥珀酸美托洛尔相当,其不良事件情况是可以接受的,并且已经确立;(iv) 明确证据表明鉴别了先前未暴露于布新洛尔的无响应亚组(见(ii))以及作为剂量减少的候选群体(2D6 PM)的基因定义的小亚群体,这将导致进入标准的改变和在3期的精确给药。

[0739] 总体结论是,为预防高风险AF的HF<sub>r</sub>EF群体中的AF,对于LVEF<0.39的ADRB1 Arg389Arg基因型患者和LVEF≥0.39且<0.50的患者,应进一步研究药物遗传学上靶向的布新洛尔,只要HF在AF之前或同时发生(即AF在HF诊断前<30天出现)。这些标准定义了一个患者,其心房-心室病理生理学可能是导致HF<sub>r</sub>EF进展的机制的结果,与AF驱动的病理生理相反。支持该考虑的因素包括在实施例2E中讨论的原发性AF与原发性HF<sub>r</sub>EF的不同病理生理基础工作、表21中给出的LVEF≥0.39的患者的DTRI四分位数的风险比、表20中给出的LVEF<0.39的患者的风险比、下面表22中给出的美国患者的风险比、以及在BEST试验中导致永久性AF的ADRB1 Arg389Arg患者的结果(在下面的实施例2F iv)中给出和讨论)

[0740] 1. 结果与BEST试验的关系

[0741] i) LVEF和NYHA类别的2期GENETIC-AF结果

[0742] 表22按重塑/功能障碍程度和NYHA类别给出了整体队列(A.)或美国随机化患者(B.)的GENETIC-AF LVEF数据。对于表22中的数据,LVEF重塑类型或NYHA类别与事件率或风险比之间没有直接关系。在整体队列和美国患者中,轻度LV重塑/功能障碍(LVEF 0.40至0.49)和非症状性心力衰竭(I类)的风险比均较低,但在两个队列中,严重LV重塑/功能障碍(LVEF<0.30)或III类心力衰竭与中度LV重塑/功能障碍(LVEF 0.30至0.39)的风险比均较低。注意到在美国患者中,LVEF亚组(<0.30)的平均值与BEST试验<sup>4</sup>(0.23)相同,风险比为0.74(0.29,1.91),而与BEST进入标准重叠的III类患者(表23)的风险比为0.81(0.30,2.15)。

[0743] 表22:通过LVEF重塑/功能障碍程度(0.40至0.49,轻度;0.30至0.39,中度;<0.30,重度);心力衰竭严重程度的NYHA分类量度;或LVEF(≤0.35)和III类NYHA的BEST试验进入标准的GENETIC-AF 2期主要终点(达到任何AF/AFL或ACM的时间)。A.整体队列、B.美国随机化的患者

A. 整体队列						
参数	LVEF			NYHA分类		
	0.40-0.49 (平均值 0.447)	0.30-0.39 (平均值 0.337)	<0.30 (平均值 0.228)	I	II	III
事件/患者(%)						
美托洛尔	35/63 (56%)	19/37 (51%)	16/32 (50%)	15/35 (43%)	40/72 (56%)	15/26 (58%)
布新洛尔	33/62 (53%)	21/36 (58%)	17/33 (52%)	15/40 (38%)	51/80 (64%)	7/14 (50%)
风险比 (95% C.I.)	0.84 (0.52,1.35)	1.13 (0.61,2.11)	0.95 (0.48,1.89)	0.72 (0.35,1.48)	1.12 (0.74,1.70)	0.83 (0.34,2.04)
B. 美国随机化的患者						
参数	LVEF			NYHA分类		
	0.40-0.49 (平均值 0.433)	0.30-0.39 (平均值 0.332)	<0.30 (平均值 0.229)	I	II	III
事件/患者(%)						
美托洛尔	15/20 (75%)	14/23 (61%)	11/23 (48%)	5/9 (56%)	23/37 (62%)	12/21 (57%)
布新洛尔	15/24 (62.5%)	10/18 (56%)	7/17 (41%)	4/12 (33%)	23/36 (64%)	6/12 (50%)
风险比 (95% C.I.)	0.51 (0.25,1.05)	0.86 (0.37,1.98)	0.74 (0.29,1.91)	0.55 (0.15,2.05)	0.82 (0.46,1.48)	0.81 (0.30,2.15)

[0744] ii) 共享BEST和GENETIC-AF进入标准的患者的特征

[0746] 表23列出了具有BEST试验LVEF进入标准(≤0.35)的76名(占整体队列的28%) GENETIC-AF患者的基线特征。为了从BEST中创建比较数据,表23中显示了来自BEST的遗传亚研究ADRB1 Arg389Arg患者,他们在随机化时未处于AF或AFL状态。

[0747] 表23:图12中研究群体的基线特征。



参数	GENETIC-AF, 美国, LVEF $\leq 0.35$		BEST, ADRB1 Arg389Arg 其中随机化时无AF/AFL	
	美托洛尔 n = 43	布新洛尔 n = 33	安慰剂 n = 203	布新洛尔 n = 232
年龄	66.0 $\pm$ 10.7	65.8 $\pm$ 10.9	59.7 $\pm$ 11.9	59.6 $\pm$ 11.9
性别 男/女(%)	81/19	88/12	76/24	79/21
LVEF	0.28 $\pm$ 0.06	0.27 $\pm$ 0.06	0.23 $\pm$ 0.07	0.23 $\pm$ 0.07
NYHA I/II/III/IV (%)	5/51/44/0	18/58/24/0	0/0/95/5	0/0/95/5
缺血性/非缺血性病因学(%)	42/58	30/70	63/37	55/45
SBP, mmHg	115.8 $\pm$ 15.1	121.2 $\pm$ 17.2	118.9 $\pm$ 18.7	117.1 $\pm$ 18.1
心率, bpm	78.7 $\pm$ 18.8	83.3 $\pm$ 19.8	80.0 $\pm$ 12.9	83.0 $\pm$ 14.0
AF Dx到筛查访视,天	745 $\pm$ 1749	1597 $\pm$ 2726	-	-
HF Dx到筛查访视,天	1837.2 $\pm$ 2182.1	2177.5 $\pm$ 2382.7	1494.2 $\pm$ 1610.8	1419.1 $\pm$ 1504.1
DTRI*	1091.7 $\pm$ 2557.5	580.7 $\pm$ 2931.6	-	-
DTRI <-30/ $\geq$ -30 (%)	19/81	21/79	-	-
去甲肾上腺素(pg/ml)	659.1 $\pm$ 309.2	657.6 $\pm$ 366.3	428.8 $\pm$ 243.8	480.5 $\pm$ 265.8
随机化时的HF Rx				
ACEI/ARB	33 (74%)	23 (70%)	189 (93%)	205 (88%)
利尿剂	37 (86%)	24 (72%)	184 (91%)	213 (92%)
地高辛	14 (33%)	7 (21%)	181 (89%)	212 (91%)
螺内酯(MRA)	20 (47%)	11 (33%)	28 (14%)	24 (10%)
沙库巴曲/缬沙坦	3 (7%)	2 (6%)	0 (0%)	0 (0%)
$\beta$ 阻滞剂	38 (88%)	28 (85%)	0 (0%)	0 (0%)
CRT-P或-D	8 (19%)	4 (12%)	0 (0%)	0 (0%)
ICD	12 (28%)	11 (33%)	9 (4%)	7 (3%)

\*DTRI=(首次HF诊断(Dx)至随机化的间隔天数-首次AF Dx至随机化的时间);  
负数表示AF被首先诊断

[0748] 尽管表23中的两个试验群体总体上相似,但仍存在一些差异。美国的GENETIC-AF人口年龄稍大、LVEF略高、非缺血性病因的百分数和去甲肾上腺素水平较高。III类NYHA的百分比(BEST中38%与95%)、MRA的使用(GENETIC-AF中41%与BEST中12%)、地高辛的使用(GENETIC-AF中28%与BEST中90%)也存在很大差异,CRT和ICD在GENETIC-AF中的少数患者中使用,在BEST中不可用(CRT)或不经常使用(ICD;3%)。因此,除了CRT装置外,两个队列均具有相同的基线特征,但在一些情况下患病率不同。

[0749] iii) 预防AF/AFL/ACM

[0750] 图11将GENETIC-AF的AF/AFL预防结果与BEST试验中的结果进行了比较,使用表23中描述的至AF/AFL的2期主要终点时间或队列的全因死亡率。

[0751] 在图11中,BEST数据将布新洛尔与安慰剂进行了比较,而在GENETIC-AF中,与琥珀酸美托洛尔进行了比较。图11A中的BEST数据与报道的<sup>13</sup>有所不同,主要终点包括ACM,并且在随机化时除去了6名心房扑动(AFL)患者。对于AF与AFL部分相比,无法确定GENETIC-AF中的AF/AFL终点,并且BEST包含的ACM比AF/AFL部分事件多,而GENETIC-AF包含的AF/AFL比ACM多。图11中的数据支持这样的考虑,即在具有HF<sub>r</sub>EF和严重LV重塑/功能障碍的ADRB1 Arg389Arg基因型患者中,布新洛尔在降低AF/AFL/ACM风险方面具有大于安慰剂的显著效果,并且高度暗示其大于琥珀酸美托洛尔。图10A中 $\leq 0.35$ 数据的LVEF平均值为0.27,略高于0.23的BEST LVEF平均值。<sup>14</sup>然而,表22B中显示的美国LVEF $< 0.30$ 的数据的平均值(0.23)与BEST中相同,<sup>14</sup>危险比为0.74(0.29, 1.91),而图10A中为0.75(0.40, 1.44)。

[0752] 表24表明,布新洛尔在BEST中的治疗效果对ADRB1 Arg389Arg基因型具有选择性,但当考虑所有基因型时,无论在BEST整体队列还是BEST亚研究中,所有基因型队列仍然存

在。

[0754] 表24: BEST、整体队列和DNA亚研究中发生AF/AFL/ACM的时间的事件率和风险比。

参数, 治疗组	整体队列 n = 2708	DNA亚研究 全部基因型 n = 1040	ADRB1 389Gly 载体* n = 482	ADRB1 Arg389Arg n = 435
[0755] 安慰剂, 事件/患者(比率)	461/1182 (39.0%)	134/457 (29.3%)	72/254 (28.4%)	62/203 (30.5%)
布新洛尔, 事件/患者(比率)	401/1193 (33.6%)	104/460 (22.6%)	61/228 (26.8%)	43/232 (18.5%)
风险比 (95% C.I.)	0.80 (0.70, 0.91) P = 0.0009	0.70 (0.54, 0.91) P = 0.007	0.95 (0.67, 1.34) P = 0.77	0.49 (0.32, 0.74) <sup>†</sup> P = 0.0005

[0756] \*ADRB1 Gly389Gly或Arg389Gly; †相互作用p与389Gly携带者 = 0.016

[0757] 在先前的NDA提交中, 由于DNA库的伦理委员会的延迟批准, 很大一部分患者(70%)在主要试验中被随机化后进入了亚研究。在这种情况下, 在可用的DNA亚研究之前进入试验的患者必须在间隔期内存活下来才能签署亚研究的同意书。这些患者包括“幸存者队列”, 他们没有ACM主要终点, 但住院事件率却较低。在图11B中, 曲线分离在4至5个月开始发生, 这部分是由于该现象(150个AF/AFL或ACM事件中的66个是ACM)。相比之下, BEST DNA亚研究群体的AF事件发生时间曲线报告的时间要早得多, 因为终点可能发生在延迟进入患者的随机化和进入DNA亚研究之间的每个治疗组中。但是, 较早的随机化患者延迟进入BEST DNA亚研究不能解释表24中观察到的ADRB1Arg389Arg基因型患者与389Gly携带者的区别, 因为在相同情况下对这些基因型亚组进行了研究。另外, 考虑到BEST中的安慰剂对照和GENETIC-AF中的主动比较剂对照, 图11A和图11B中的效果是可比较的。

[0758] 最后, 在先前提交的NDA中, FDA审核人认为这些晚期进入DNA亚研究患者的治疗效果存在差异, 因为他们是经过高度筛选的, 不能代表一般的BEST试验群体。发明人针对该问题进行了广泛的分析, 包括针对ACM BEST主要终点和计划用于先前商讨的心力衰竭试验SPA的CVM/CVH终点对同意DNA亚研究的时间与BEST中的随机化的倾向评分分析。这些分析将在新的NDA中进行介绍, 结果是: 1) 由于包含倾向得分, ADRB1基因型和治疗之间相互作用的p值显著增加; 2) 对于ADRB1 Arg389Arg基因型, 由于倾向得分的增加, 治疗效果(风险比)的估计值没有变化。ADRB1 Arg389Arg基因型患者治疗效果的降低部分与短的总体随访时间(1.15年, 整体队列为2年)有关, 此外, 对于ACM终点, 所有在1997年6月11日首次DNA抽取用于药物遗传学亚研究后招募的患者的治疗效果均较差。关于这一点, 卡维地洛一个月前批准用于治疗HFREF可能会导致BEST招募的患者的类型发生变化。

[0759] iv) 在GENETIC-AF和BEST中, ADRA2C插入322-325缺失多态性对到达AF/AFL或ACM终点时间的影响。

[0760]  $\alpha$ 2C-肾上腺素能受体(ADRA2C)是位于心脏交感神经末梢的前接点AR, 其负调节NE的释放。<sup>78</sup>ADRA2C具有较高的插入/缺失多态性(插入缺失), 该多态性是种族分布的(de1等位基因频率在欧洲血统个体中为0.04, 在非洲血统中为0.43)。<sup>79</sup>插入缺失位于第三个胞浆内环, 这是一个功能重要的区域, 并且4个氨基酸片段的缺失使受体几乎不起作用。<sup>80</sup>

[0761] 作为BEST试验AR多态性亚研究的一部分, 研究了ADRA2C插入/缺失多态性与系统性NE水平和临床结果的关系。与插入纯合子对照组相比, 发现缺失基因型与较高的基线NE

水平无相关性,但与布新洛尔的更大NE降低相关。<sup>81</sup>与插入纯合子相比,与缺失相关的肾上腺素功能失调与对于心血管死亡率降低和心力衰竭住院负担(因心力衰竭住院的总天数,转者/年)的有效性降低有关。<sup>71</sup>这些对临床结局的不良影响可能与布新洛尔组的更大NE降低有关,因为缺失基因型的抗交感神经药物的水平(与插入纯合子的降低50pg/ml相比,降低153pg/ml)与较大的BEST整体队列<sup>22</sup>以及MOXCON研究交感神经阻滞剂莫索尼定的死亡率增加有关。<sup>82</sup>

[0762] 然后研究了ADRA2C插入/缺失遗传变异与ADRB1 Arg389Gly多态性之间的药效学相互作用,以了解对NE降低和临床结果的影响。<sup>19</sup>对于这两种受体,次要等位基因均为显性负,这意味着纯合子或杂合子会产生相似的功能降低。<sup>17, 19</sup>组合基因型分析表明,与ADRB1 389Gly基因型结合使用时,缺失基因型中布新洛尔显著降低NE只会产生不利的临床效果<sup>9</sup>,其中编码的 $\beta_1$ -受体蛋白除信号转导能力受损外对NE的亲合力也明显较低。<sup>17, 19</sup>因此, {ADRB1 389Gly携带者+ADRA2C缺失携带者}的组合基因型会导致肾上腺素能活性显著降低以及功能低下的去甲肾上腺素亲和力低的 $\beta_1$ -AR。

[0763] {ADRA2C缺失携带者(杂合子或纯合子)和ADRB1 Arg389Arg(Arg389纯合子)}的组合基因型出现在1040名患者DNA研究的7%中,尽管NE显著降低,但没有证据显示对疗效有任何不利影响(120pg/ml,相比于相同的组合基因型安慰剂组增加了38pg/ml)。对于ACM、CVM和心力衰竭住院负担,该组合基因型的风险比分别为0.50(0.12, 2.05)、0.40(0.08, 2.12)和0.60(0.11, 1.30)。另一方面,对于ACM、CVM和心力衰竭住院负担, {ADRA2C缺失携带者和ADRB1 389Gly携带者}的组合基因型(占总数的13%)显示出功效丧失的证据(对于ACM、CVM和心力衰竭住院负担的风险比分别为1.04(0.43, 2.54)、1.11(0.45, 2.78)和1.19(-0.17, 2.55))。

[0764] 结合基因型临床结局分析以及ADRA2C和ADRB1基因多态性的药理学得出的结论是:1)ADRA2C缺失基因型(缺失携带者)中与显著的NE降低相关的布新洛尔效力损失仅限于同时具有ADRB1 389Gly基因型(389Gly携带者)的HFREF患者;以及2)如果HFREF患者也是ADRB1 Arg389纯合的,该患者可仅具有高功能、高NE亲和力、高组成活性Arg389 $\beta_{11}$ -AR,则ADRA2C缺失携带者中不存在效力损失的问题。换句话说,Arg389 $\beta_{11}$ -AR的较高功能和NE亲和力可防止心脏功能受损,从而降低中重度LV功能障碍时NE的明显降低。甚至有可能在 {ADRA2C缺失携带者+ADRB1 Arg389Arg}患者中提高布新洛尔的疗效,由于这些原因,没有前瞻性地对GENETIC-AF中的ADRA2C插入322-325缺失进行基因型分析,其中所有随机对象都是ADRB1 Arg 389纯合的。但是,从存储的DNA样本中进行了基因分型,在267名随机对象中的260名获得了技术上足够的结果(方法6E中的方法)。

[0765] 图12A和图12B给出了ADRA2C插入纯合子(16A)或缺失携带者(16B)的GENETIC-AF中AF/AFL或ACM事件曲线时间。图12C和图12B通过BEST DNA亚研究的ADRB1 Arg389纯合子亚群中的ADRA2C插入/缺失多态性给出了相同的终点。在GENETIC-AF和BEST中,与ADRA2C插入纯合子相比,ADRA2C 322-325缺失基因型与较低的风险比更相关,这支持了存在ADRB1Arg389Arg基因型消除了与ADRA2C缺失基因型相关的布新洛尔有效性的任何损害的观点。

[0766] v)心力衰竭终点

[0767] 表25比较了在24周的随访期内美国GENETIC-AF患者的心力衰竭终点,与图12B所

示的BEST试验ADRB1 Arg389Arg患者进行了比较。

[0768] 表25中的GENETIC-AF心力衰竭终点数据没有足够的事件来提供与BEST的比较群体的有效比较。提议的第3部分的3期试验将至少随访12个月,这将产生更多的心力衰竭事件以用于评估。

[0769] 表25美国LVEF $\leq$ 0.35GENETIC-AF患者的心力衰竭事件与随机化时的无AF/AFL的BEST试验ADRB1 Arg389Arg遗传亚组(未经调整的对数秩)

终点	GENETIC-AF, n = 127			BEST ADRB1 Arg389Arg, 随机化时无AF, n = 435		
	美托洛尔事件/36名患者 (%)	布新洛尔事件/29名患者 (%)	风险比, P值	安慰剂事件/203名患者 (%)	布新洛尔事件/232名患者 (%)	风险比, P值
ACM	2 (3.0%)	0 (0%)	-	41 (19.9%)	33 (14.0%)	0.61 (0.38, 0.99) P = 0.048
CVM	0 (0%)	0 (0%)	-	34 (16.5%)	25 (10.6%)	0.54 (0.31, 0.93) P = 0.026
HFH	1 (1.5%)	2 (3.3%)	2.21 (0.20,24.32) P = 0.52	72 (35.0%)	65 (27.7%)	0.70 (0.49, 0.99) P = 0.043
CVH	4 (6.0%)	3 (5.0%)	0.84 (0.19,3.73) P = 0.81	96 (46.6%)	88 (37.5%)	0.69 (0.51, 0.94) P = 0.017
ACM/HFH	3 (4.5%)	2 (3.3%)	0.74 (0.12,4.41) P = 0.74	89 (43.2%)	82 (34.9%)	0.69 (0.51, 0.95) P = 0.021
ACM/CVH	6 (9.0%)	3 (5.0%)	0.56 (0.14,2.22) P = 0.41	111 (53.9%)	106 (45.1)	0.72 (0.55, 0.95) P = 0.021
CVM/HFH	1 (1.5%)	2 (3.3%)	2.21 (0.20,24.32) P = 0.52	87 (42.2%)	76 (32.3%)	0.66 (0.48, 0.91) P = 0.011

[0771] ACM=全因死亡率、CVM=心血管死亡率;HFH=HF住院治疗、CVH=心血管住院治疗、pt=患者

[0772] vi) 永久性AF

[0773] HFrEF治疗的最新认识之一是在永久性AF中,当前的标准 $\beta$ 阻滞剂治疗几乎没有或没有治疗效果。<sup>28,83,84</sup>在GENETIC-AF中,在24周随访期结束时,有24%的GENETIC-AF研究群体为AF,但根据设计、试验规模和随访时间,无法研究持续性或永久性AF的影响。然而,在BEST<sup>24</sup>和ADRB1 Arg389Arg子集中研究了对心力衰竭事件的影响,全因死亡率或心力衰竭住院和心血管疾病死亡率或心血管疾病住院时间的终点的 $p < 0.05$ ,效果大小超过70%。图13显示了来自Kotecha等人的个体患者荟萃分析(meta-analysis)的森林图,<sup>28</sup>底部显示了BEST ADRB1 Arg389Arg永久性AF患者(n=108)以进行比较。

[0774] 图13中的数据表明,布新洛尔有望降低患有永久性AF的HFrEF患者的HF事件率,并为在该患者群体中进行专门试验提供依据。

[0775] 2. 整体说明

[0776] GENETIC-AF试验中的汇总数据和LVEF $\leq$ 0.35美国数据与ADRB1Arg389Arg基因型患者的BEST DNA亚研究数据总体相符,原因是GENETIC-AF是使用具有相当大活性的活性比较剂进行的,而BEST是安慰剂对照的。ROW数据因匈牙利患者的登记而受到阻碍,这些患者不是患有复发性AF风险的HFrEF患者,而是具有最轻度至轻度重塑/LV功能障碍的长期AF的患者。预计这些患者的病理生理情况会非常不同,并且实际上没有证据表明其会产生良好



的治疗效果。尽管如此,将全部267名患者纳入GENETIC-AF产生了与美托洛尔等效的证据,美托洛尔是一种在欧洲获准用于治疗SVT的β阻滞剂,并且其琥珀酸制剂在预防HFrEF中的AF方面具有相当大的功效<sup>12,13</sup>。

[0777] 实施例2-3期

[0778] 根据从GENETIC-AF获得的见解,现将3期的类似试验设计与首次出现症状性AF/AFL/ACM事件的时间作为主要终点。提议的3期群体包括对复发性AF高风险的ADRB1 Arg389Arg基因型HFrEF患者相同的要求。但是,对于LVEF $\geq$ 40和 $<$ 0.50的患者,其资格仅限于历史上在心力衰竭诊断后或心力衰竭诊断同时发生(即在其HF诊断之前不超过30天)首次心房颤动的患者。有效的比较者将再次为琥珀酸美托洛尔,随访期为12个月而不是24周,以更好地捕捉可能的布新洛尔重塑对AF/AFL风险的有利影响,并评估更多的心力衰竭事件。随机化之前的药物遗传测试将包括ADRB1 Arg389Gly基因分型以确定合格性,以及CYP2D6基因分型以确定在具有弱代谢者基因变体的患者中两种研究药物的剂量是否需要降低。

[0779] 3期主要终点

[0780] 整个队列:图6示出了对于2B期和3期主要终点的事件时间曲线。除了额外的3期对于在AF/AFL事件时的新症状或恶化症状的要求,这些终点是相同的。如果设盲的临床事件委员会裁定在AF/AFL事件 $\pm$ 7天之内有新症状或恶化症状,则AF/AFL事件归类为症状性的。

[0781] 除了存在AF/AFL事件的7位患者之外的所有患者被临床事件委员会裁定为症状性AF/AFL事件。超过90%这些症状性AF/AFL事件被确认为AF/AFL的首次发作(即 $<$ 10%的有症状性事件的AF/AFL患者最初具有非症状性事件)。因此,症状性AF/AFL/ACM结果与2期主要终点是非常相似的。

[0782] 与2期主要终点相似,图6中的事件时间曲线并不说明琥珀酸美托洛尔和布新洛尔在整个队列中预防AF的功效差异。

[0783] U.S.和其他未定义区域:表5列出了在2期统计分析计划中指定用于分析的三个区域中,至症状性AF/AFL或ACM的时间的3期终点的风险比,并显示了2期终点以进行比较。

[0784] 表5指出了2期和3期终点之间的一致性,这是可以预期的,因为143名(95%)AF/AFL/ACM事件患者中有136名也出现了症状性AF/AFL/ACM事件。

[0785] 表5:在整个队列或统计分析计划预定义的地理区域中,比较2期(达到任何AF/AFL或ACM的时间)与3期(症状性AF/AFL或ACM)的风险比(95%置信区间)。

终点	整个队列 (n=267)143 事件 136 Sx 事件	U.S. (n=127) 73 事件 72 Sx 事件	加拿大(N=59) 35 事件 31 Sx 事件	欧洲(N=81) 35 事件 33 Sx 事件
[0786] 2 期	1.01 (0.71, 1.42)	0.70 (0.41, 1.19)	1.52 (0.68, 3.43)	1.01 (0.48, 2.14)
3 期	1.02 (0.72, 1.45)	0.73 (0.43, 1.26)	1.60 (0.69, 3.72)	1.04 (0.48, 2.26)

[0787] Sx=症状性;全部分析了调整的协变量。

[0788] A. 研究群体的重新定义

[0789] i) 具有高AF风险的HFrEF,重新定义

[0790] 如果随后在HFrEF群体中进行了3期AF预防试验,则从第2.5.2.1节提供的数据中可以清楚地看出,轻度LV功能障碍的患者将需要有HF在AF之前发生或同时发生的证据,以确定患者群体的心房和心室病理生理是由HF而非长期AF所驱动的。如图10所示,如果确认AF在HF之后发展或者AF与HF同时发展(即,在HF诊断前不超过30天诊断AF),则轻度或最小LV功能障碍的HF患者似乎对布新洛尔有反应。对于LVEF<0.39的亚群体,基本阴性的DTRI不具有相同的效果(表19),但通过强调和照顾心力衰竭患者的站点随机化。因此,任何随后的3期试验的进入标准将包括LVEF<0.40, LVEF $\geq$ 0.40(出于实践目的,下限四舍五入为0.40)和<0.50(准HF<sub>mr</sub>EF人群)和DTRI>-30天的患者,这意味着在进行HF诊断之前 $\geq$ 30天不能进行最初的AF诊断。另一个调整将是所有站点都将有照顾心力衰竭患者的PI参与(遵循MIRACLE<sup>75</sup>和COMPANION<sup>76</sup>试验模型)。这些调整应意味着研究群体将至少是在GENETIC-AF中随机化的群体的80%。

[0791] 图14使用LVEF<0.40或LVEF $\geq$ 0.40,<0.50和DTRI>-30天标准给出了整个队列(17.A)和美国患者(17.B)的事件时间曲线。

[0792] ii) CYP2D6基因分型

[0793] 认为应在随后的任何3期试验中应用的进入标准的另一项重大调整是,将CYP2D6基因型分型添加到ADRB1 Arg389Gly基因分析中如在GENETIC-AF中所做的那样。这将增加精确剂量,以增加对布新洛尔的精确靶向。这是相对简单的事情,因为已经收集了DNA并对其进行了采样,并且两者的周转时间都将少于一周,与单独的ADRB1没有不同。尽管与AE的增加无关,但PM中布新洛尔的血浆水平明显升高使得 $\beta_1$ -AR受体的占有率远远超出了与风险比>2.0相关的必要水平,从而增加了低亲和力受体或通道结合位点的占有发生并干扰疗效的可能性。此外,PM中高水平的布新洛尔意味着与CYP3A4代谢的药物可能发生药物相互作用。CYP3A4是布新洛尔代谢的另一种途径,当2D6代谢不是一个因素时,它可能很重要<sup>85</sup>。在琥珀酸美托洛尔治疗的患者中,PM血浆中的升高要少得多,是EM的2.4倍。与布新洛尔PM组或美托洛尔EM组相比,该组的心脏AE率无明显升高,这主要归因于心动过缓AE。此外,PM基因型患者可能对症状和/或心动过缓有反应,GENETIC-AF的研究者使美托洛尔剂量水平降低了36%,布新洛尔剂量降低了25%,支持在这种2D6基因型中应降低每种药物的目标剂量的观点。这些临床结果趋势和药代动力学效应支持前瞻性2D6基因分型和降低PM剂量,如果可以在试验中切实可行地实施的话。

[0794] 这里的观点不是在2D6 PM中停止治疗,而是将剂量降低到使血液水平与IM处于同一范围内的水平。在2D6 PM的ADRB1 Arg389Arg患者中,有7%至8%的人的布新洛尔和美托洛尔的剂量可能甚至有可能同比例减少例如50%或75%。因此,该操作不会减少有资格进行试验或最终可用于布新洛尔商业治疗的患者数量,但可确保在GENETIC-AF PM中测得的布新洛尔高血液水平不会干扰疗效或与不良事件相关。在3期之前进行的在健康志愿者PM中的单独药代动力学研究或自适应设计首先降低两种 $\beta$ -阻滞剂的剂量,然后通过DSMB仔细监测C<sub>分钟</sub>药物水平,并在必要时进一步调整剂量,这对于精确确定所需的剂量减少是必要的。图15给出了GENETIC-AF的2期主要终点时间-事件分析,其中除去了PM。

[0795] B. 终点

[0796] i) 预防复发性症状性AF/AFL/ACM的主要终点

[0797] 主要终点时间-事件曲线(例如,图18和其他曲线)具有双相模式,该模式由头2周的早期阶段组成,几乎没有或没有分离,然后逐步分离到24周。从机理的角度来看,这表明了心房颤动机制的时间依赖性重塑。LV中已显示出这种 $\beta$ -阻滞剂的时间依赖性重塑的结构和功能<sup>86,87</sup>以及可能解释这种作用的分子机制<sup>48,49</sup>。 $\beta$ -阻滞剂的逆向重塑可发展至少一年,对于布新洛尔,有证据表明它可以持续长达18个月。<sup>87</sup>由于这些原因,希望将3期的主要终点随访期从24周延长至52周。

[0798] 对于主要终点,计划使用当前的AF/AFL/ACM时间定义,因为这是硬性终点,不会像医院住院那样受到主观措施的影响。症状捕捉数据显示1)症状捕捉和裁定方法尽管有些不灵活但却是十分灵敏的,以及2)HF<sub>r</sub>EF患者中的绝大多数AF/AFL事件(143个中的136个)是症状性的。尽管有论点认为,AF/AFL的发生在临床上比患者是否有相关症状更为重要(例如,持续监测AF/AFL>6分钟,卒中风险上升),<sup>88</sup>如GENETIC-AF研究表明的,如果仔细观察便会发现,大多数发生临床AF/AFL事件的患者都是症状性的。但是,ARCA建议将症状性AF/AFL/ACM作为3期主要终点,将继续研究所有AF/AFL事件(即非症状性和症状性)作为主要的次要终点。由于与检测AF/AFL事件所需的严密监视相关的费用和患者不便,将主要终点随访期限限制为12个月,但继续对患者进行次要终点随访,直至研究完成,如GENETIC-AF中所做的那样。

[0799] 事实证明,从GENETIC-AF的亚研究中产生的AFB在证明临床/ECG检测方法的准确性方面非常有帮助,并且表明6小时的AFB与随后的临床AF/AFB高度相关。但是,不希望进行将AFB纳入主要终点的试验,因为1)并非其他有资格进行研究的每个人都希望有可植入或可插入的装置,2)在不可能由第三方付款时,在有环路记录器的情况下,提供的费用是不可忽略的;3)尚不清楚FDA是否会接受6小时的AFB作为AF/AFL的定义,因为它可能是非症状性的,并且4)在无预处理的个体患者控制期平行设计中使用AUC AFB产生高的方差数据,其即使对于中等变化通过标准统计方法的检测也是不可接受的。但是,由于AFB对GENETIC-AF有所帮助,可能会再次进行亚研究。

[0800] ii) 次要终点

[0801] 在GENETIC-AF中,最高阶次要终点是任何(症状性或非症状性)AF/AFL或ACM,这是2期中期分析和最终分析的主要终点。如果症状性AF仍然是预防AF/AFL的药物批准的管理标准,那么任何AF/AFL或ACM都将再次成为最高阶次要终点。否则,在随后的3期研究中,将在整个随访期间将重点放在心力衰竭的次要终点上。在发展复发性AF的GENETIC-AF患者中,尝试提供心室率控制以及后续心力衰竭事件的信息,但是由于技术和样品尺寸的原因,这并不是富有成果的尝试。在永久性AF HF<sub>r</sub>EF群体中的这种测量心室率和心力衰竭事件的研究证实/或扩展了来自BEST<sup>14</sup>的结果(图13),并需要单独/专门的研究。

[0802] iii) 在永久性AF中预防心力衰竭事件的主要终点

[0803] 图13中的数据在包括约50%美国群体的ADRB1 Arg389Arg群体中提供重要前景,永久性AF中的HF<sub>r</sub>EF将受益于布新洛尔以减少大部分发病率和死亡率。基于图13所示的数据,这还会使得解决主要的未被满足的医疗需求。这里的主要终点将是心血管病死亡或心力衰竭住院治疗的时间,要求1500至2000个HF<sub>r</sub>EF和HF<sub>mr</sub>EF患者以达到足够事件。这会是主

要的经济上的工作,并要求与主要的制药公司合作。然而,ARCA追求这种合作并在实施例5可行的情况下将进行该研究。

[0804] 实施例3-3期实验路线

[0805] A. 传统途经

[0806] 设计和时间线

[0807] i) AF/AFL或ACM的预防

[0808] 上面概述了随后的3期试验的一些特点,包括重新定义的患者人群,这将限制心力衰竭之前长期AF的HFmrEF患者进入;药物遗传学精确剂量设计,以消除非常高的药物水平以及可能对疗效产生负面影响和/或安全性,以及更长的疗效随访期。AF复发纳入标准的高风险将类似于GENETIC-AF,但在下一个研究中,期望AF消融后患者的比例更高。这样的研究将在美国用于GENETIC-AF的MIRACLE/COMPANION模型<sup>65,66</sup>上进行,其中每个站点都有专门的心力衰竭临床计划,EP和移植/心力衰竭专家都是PI或Co-I。至于GENETIC-AF,至少有50%的患者和事件将需要来自美国。还将计算样本量的效果大小从25%降低至20%,这与后续随访时间的增加保持了平衡,这意味着平均样本量在 $n=500-600$ ,以达到 $p<0.05$ 。还将在该试验中使用贝叶斯预测概率,对200位可评估患者进行中期分析,并且PPoS边界与图3中的那些相同或相似。该实验将需要大约3年来完成,已经在美国确定了研究点和研究者。将需要在加拿大和欧洲招募一些额外的心力衰竭PI和Co-I,并且可扩展到澳大利亚,在澳大利亚具有强的心力衰竭关系。由于额外的风险资本基金可能是不可获得的,还可能会需要共同开发的合作者。该研究的流程图示于图16。

[0809] ii) HFrEF/HFmrEF中的主要心力衰竭发病率和死亡率的预防

[0810] 如果在HFrEF/HFmrEF进行心力衰竭事件减少实验,时间线会比3期GENETIC-AF II研究更长,可能为4年左右。发明人此前曾与FDA就此类试验进行过广泛讨论,并实际上就此进行了SPA协商。<sup>89</sup>区别在于SPA是针对所有心律的HFrEF试验,而不是仅针对永久性AF的HFrEF/HFmrEF。如果成功,该试验将首次证明具有永久性AF的HFrEF中使用 $\beta$ -阻滞剂的益处,也是证明在HFmrEF中有益的首个对任何类型心力衰竭的治疗。

[0811] B. 快速途径

[0812] I) 设计和时间线

[0813] 该途径将是进行上面关于传统设计和途径的概述的试验,并且示于图16中。但在加速批准途径(即加速批准)的支持下。加速批准的基础将是由GENETIC-AF支持的BEST试验数据,主要是在美国产生的数据,证实了BEST数据。GENETIC-AF数据已经解决了上次请求NDA提交心力衰竭批准时提交的大部分CRL问题,并且可以很快和/或在NDA提交中提供有关此问题的进一步文档。加速批准途径的逻辑依据是符合2014年5月FDA指导标准的布新洛尔(1)被指示用于严重疾病(AF-HFrEF),2)通过提供优于现有疗法的有意义的优势而解决了ADRB1 Arg389Arg基因型的HFrEF患者的未满足医疗需求;3)证明对合理预测临床益处的中间临床终点(或本例中的两个中间终点,非症状性或症状性的AF/AFL或ACM,以及6个小时的AFB)产生影响。

[0814] 实施例5.

[0815] C. AF负担数据

[0816] 参见下表26。



- [0817] D. 去甲肾上腺素(NE)和NT-proBNP数据
- [0818] 参见附录的表27和28.
- [0819] E. 总随访期间的安全性
- [0820] 参见附录的表29至34.
- [0821] F. CYP2D6基因变异对不良事件的影响
- [0822] 参见附录的表35至38.
- [0823] G. 按国家分类的PI次级专业
- [0824] 参见附录和以下S7.9.1的表39.

[0825]

**表S7.9.1. 在GENETIC-AF中按国家分类的PI次级专业和随机化分组**

PI, 随机分配的 Pt/次级专业	U. S. (127Pt/43 个研究点)	加拿大 (59Pt/18 个研究点)	匈牙利 (33Pt/7 个研究点)	波兰 (23Pt/6 个研究点)	塞尔维亚 (21Pt/4 个研究点)	荷兰 (4Pt/4 个研究点)
PI次级专业	EP 23 (53%) HF 13 (30%) GC/I 6 (14%) Intvn 1 (2%)	EP 12 (67%) GC/I 3 (17%) Intvn 1 (11%) Crt Cr 1 (6%)	EP 5 (71%) Intvn 1 (14%) Crt Cr 1 (14%)	EP 1 (17%) HF 1 (17%) GC/I 4 (66%)	GC/I 3 (75%) Intvn 1(25%)	GC/I 4 (100%)
总计, PI		<b>EP 41 (48%)</b> <b>HF 18 (21%)</b> <b>GC/I 20 (24%)</b>	<b>Intvn 4 (5%)</b> <b>Crt Cr 2 (2%)</b>			
按次级专业 随机化分组	EP 77 (61%) HF 32 (25%) GC/I 15(12%) Intvn 3 (2%)	EP 47 (80%) GC/I 9 (15%) Intvn 2 (2%) Crt Cr 1(xx)	EP 26 (79%) Intvn 6 (18%) Crt Cr 1 (3%)	EP 9 (39%) HF 4 (17%) GC/I 10 (43%)	GC/I 20 (95%) Intvn 1 (5%)	GC/I 4 (100%)
总计, 随机化 分组/次级专业		<b>EP 159 (59.6%)</b> <b>HF 36 (13.5%)</b> <b>GC/I 58 (21.7%)</b>	<b>Intvn 12 (4.5%)</b> <b>Crt Cr 2 (0.7%)</b>			

[0826] EP=电生理学家;HF=心力衰竭或HF/移植;GC/I=一般心脏病&/或成像;Intvn=介入性;Crt Cr=特级护理

[0827] H. 被 {LVEF≥0.39, DTRI<-30天} 排除的患者数量

[0828] 参见附录的表40.

[0829] 实施例5. 方法描述

[0830] A. 研究药物的获取和制备

[0831] Toprol XL是缓释琥珀酸美托洛尔的商标名,其从供应商Patheon,ARCA的药物产品CMO合作者获得.Patheon使用Adira Medica,LLC用于这些比较试剂的采购活动.Patheon还负责设盲研究药物和比较试剂,并初步包装入泡罩.布新洛尔和Toprol XL片剂的设盲是通过过度包封实现的,对于所有研究剂量,均使用相同颜色和大小超胶囊.在三个pH条件(pH 1.2-2.0、4.5和6.8)下进行了比较溶出度研究,结果表明,过度包封过程不会改变活性药物的生物利用度。

[0832] B. ADRB1Arg389Gly基因分型方法

[0833] ADRB1 Arg389Gly基因分型是由美国加利福尼亚州洛杉矶国家遗传研究所的实验室公司通过TaqMan PCR进行的,使用侧翼引物对核苷酸1165处的ADRB1 C到G进行置换.该测定是在2013年11月20日批准的IDE G130274的支持下进行的,以支持GENETIC-AF试验。

[0834] C. 诊断至随机化指数(DTRI),图解说明

[0835] 参见图17和18。

## [0836] D.CYP2D6多态性方法

[0837] CYP2D6多态性使用Luminex Corporation生产的®xTAG CYP2D6 Kit v3进行了鉴定,并由美国科罗拉多州盐湖城的LabCorp子公司Covance对全血中提取的DNA进行了测定。有关已识别的多态性,请参见附录中的表41。

## [0838] E.ADRA2C插入322-325缺失方法

[0839] 如前所述,通过RFLP-PCR和凝胶电泳鉴定ADRA2C插入322-325缺失多态性<sup>29</sup>,使用ADRA2C核苷酸+964至975侧翼引物扩增的PCR产物的DdeI限制性消化。然后通过凝胶电泳分离消化物,并通过其片段鉴定为插入纯合子、杂合子或缺失纯合子。该测定是在科罗拉多大学医学院校园的Michael Bristow博士的学术实验室中对Covance提供的GENETIC-AF患者的DNA样本进行的。

## [0840] AF负担数据

[0841] 表26:在24周随访期间,每周一次的未审查或经审查的(在ECV、AF消融或施用3类抗心律失常药物)AFB数据。

[0842]

周	未审查					经审查*				
	美托洛尔 N = 33		布新洛尔 N = 35		P 值	美托洛尔 N = 33		布新洛尔 N = 35		P 值
N	AFB ±SD	N	AFB ±SD	N		AFB ±SD	N	AFB ±SD		
1(d1-7)	33	6.8±9.7	33	4.8±8.3	0.40	33	6.8±9.7	33	4.8±8.3	0.41
2	33	8.4±10.8	33	7.4±10.7	0.38	32	7.9±10.6	31	7.1±10.6	0.45
3	32	9.3±11.0	33	7.9±11.0	0.76	29	7.9±10.6	29	7.4±11.2	0.83
4	32	9.0±11.0	34	8.9±11.1	0.44	26	6.0±10.1	30	8.5±11.1	0.80
5	32	9.7±10.7	35	8.9±11.0	0.71	25	8.7±10.4	28	7.8±11.3	0.51
6	32	8.1±10.6	35	7.6±10.6	0.38	24	8.5±10.8	28	7.8±11.3	0.44
7	32	7.8±10.6	35	7.5±10.4	0.47	24	8.4±10.7	26	6.7±10.7	0.14
8	32	8.5±10.9	35	7.9±10.6	0.55	24	8.7±11.3	7.0	7.0±10.7	0.36
9	32	9.3±11.0	35	6.1±9.9	0.14	24	9.7±11.2	24	6.0±10.5	0.11
10	32	8.4±11.0	35	6.4±10.0	0.16	22	8.0±11.2	23	5.6±9.9	0.11
11	32	8.3±10.7	35	7.3±10.6	0.24	19	8.7±11.0	23	7.2±10.8	0.18
12	32	8.3±11.1	35	7.0±10.8	0.26	18	8.3±11.5	23	7.4±11.2	0.18
13	31	7.3±10.7	34	5.6±9.5	0.53	18	6.8±11.0	21	5.4±9.5	0.60
14	31	8.3±11.3	34	5.2±9.1	0.29	18	7.8±11.2	20	4.7±9.6	0.25
15	31	7.5±10.8	34	3.5±8.1	0.19	17	7.3±11.1	19	2.7±7.5	0.21
16	31	7.1±11.0	34	5.0±9.6	0.18	17	7.2±11.2	18	3.9±9.0	0.033
17	31	7.1±11.0	34	3.9±8.6	0.15	17	7.2±11.2	18	4.0±9.2	0.012
18	31	7.1±11.0	34	3.8±8.0	0.51	17	7.2±11.2	17	3.5±8.1	0.27
19	30	6.4±10.5	33	5.0±9.2	0.85	17	7.2±11.2	16	3.1±7.1	0.33
20	30	6.4±10.5	33	5.1±9.9	0.21	17	7.1±10.9	16	3.1±8.2	0.022
21	30	6.4±10.3	33	4.4±9.4	0.29	17	7.0±10.5	15	1.6±6.2	0.015
22	30	6.6±10.7	33	4.2±8.9	0.29	17	7.3±11.1	15	1.6±6.2	0.037
23	30	6.8±10.6	33	3.7±8.6	0.28	17	7.8±11.0	15	1.7±6.2	0.050
24	29	6.9±10.9	32	3.4±8.0	0.32	17	7.2±11.2	15	2.0±6.2	0.10

[0843] 对于ECV,消融术,用3类抗心律失常药物(胺碘酮、多非利特、甲磺胺心定)处理

[0844] 附录提供了额外的AF负担数据。

[0845] 生成布新洛尔的不良事件(AE)曲线。布新洛尔的AE曲线与美托洛尔相似,但心动过缓明显例外,在布新洛尔组中心动过缓明显降低。两组的住院率相似,尤其是与心血管和心力衰竭事件相关的住院。死亡率也相似,每组有3人死亡。但是,美托洛尔组的所有3例死亡均发生在研究的前12周内;而布新洛尔组的所有3例死亡都是在治疗一年以上之后发生的。

[0846] AE, 住院治疗, 卒中或死亡

[0847]	终点	美托洛尔 (N=133)	布新洛尔 (N=134)
[0848]	AE 导致永久性研究药物停止	8.3%	8.2%
	AE 导致研究取消(排除死亡)	1.5%	1.5%
	AE:心动过缓	12.0%	3.7%
	AE:卒中(OAC 的 99%)	0.0%	0.0%
	SAE: 任何心血管事件	9.8%	9.0%
	全因住院治疗率	15.0%	20.1%
	心血管病住院治疗	10.5%	12.7%
	心力衰竭住院治疗	7.5%	6.7%
	全因死亡率	2.3%	2.3%
	心血管病死亡	1.5%	0.7%
	心力衰竭死亡	0.7%	0.0%

[0849] 结论

[0850] 在总体群体中,与活性比较试剂美托洛尔相比,药物遗传学指导的布新洛尔没有降低AF/AFL/ACM复发。在几个大的亚群体中观察到了布新洛尔的获益趋势,但与美托洛尔相比,布新洛尔的安全性似乎更高。从这些2期结果中,可以在重新定义的人群中进一步调查:HF<sub>rEF</sub>(LVEF<0.40);如果DTRI>-30天,则为HF<sub>mrEF</sub>(LVEF≥0.40且<0.50);症状性的阵发性/持续性AF≤180天随机化;和/或β<sub>1</sub>389Arg/Arg基因型。

[0851] 在一个实施方案中,利用与AF和HF计时有关的处方算法。处方算法的示例如下:

[0852] 在LVEF≥0.39(或四舍五入为≥0.40)中,布新洛尔仅用于在HF出现前不超过29天(DTRI>-30天)出现AF的患者。对于LVEF<0.39(或舍入为<0.40),无DTRI限制。

[0853] DTRI(诊断至随机化指数)=从首次HF诊断至随机化的时间(天)减去从首次AF诊断至随机化的时间

[0854] 实施例6-GENETIC-AF和精确治疗基因分型:布新洛尔用于在限定基因型的心力衰竭人群中维持窦性心律

[0855] 目的:在具有心房颤动(AF)的遗传性心力衰竭(HF)人群中,比较布新洛尔和琥珀酸美托洛尔对维持窦性心律的功效。

[0856] 背景:布新洛尔是一种β阻滞剂,其独特的药理特性可为具有β<sub>1</sub>-肾上腺素能受体(ADRB1)Arg389Arg基因型的射血分数降低的HF患者(HF<sub>rEF</sub>)提供更大的益处。

[0857] 方法:267例左室射血分数(LVEF)<0.50、症状性AF和ADRB1Arg389Arg基因型的HFrEF患者按1:1比例随机化布新洛尔或美托洛尔,并向上滴定至目标剂量。通过心电图(ECG)在24周期间评估AF/心房扑动(AFL)或全因死亡率(ACM)的主要终点。

[0858] 结果:主要终点的风险比为1.01(95%CI:0.71,1.42),但是在几个亚组观察到布新洛尔的益处趋势。精确的治疗表型分析显示,对布新洛尔的差异反应与以下有关1)从最初诊断HF和AF至随机化的时间间隔;以及2)AF的发作相对于最初的心力衰竭诊断的时间间隔。在群体中首次被诊断为HF和AF<12年的群体中,AF发作在HF之前不超过2年(N=196),HR为0.54(95%CI:q=0.87,p=0.011,还出人意料地观察到,在具有较高LVEF的患者组中,布新洛尔的有效性更高,在LVEF在0.45至0.50之间的组中,其有效性最高。图30示出曲线图,其表明LVEF与治疗效果之间的关系,并支持在左室射血分数较高的患者中使用布新洛尔治疗。

[0859] 结论:在HFrEF患者中,相比于美托洛尔,药物遗传学指导的布新洛尔疗法没有使AF/AFL/ACM的复发率降低,但是确认了值得在未来的3期实验中进一步研究的群体。缩写清单为:ADRB1=β<sub>1</sub>-肾上腺素能受体基因,AF=心房颤动,AFL=心房扑动,Arg=精氨酸;DTRI=诊断至随机化指数;DxT=最初诊断至随机化的时间,HF=心力衰竭,HFrEF=具有低范围射血分数的HF(LVEF<0.40),HFmrEF=具有中等范围射血分数的HF(0.40≤LVEF<0.50),HFrEF=具有降低的射血分数的HF(LVEF<0.50),ICM=可插入的心脏监视器。

[0860] A. 方法

[0861] 1、研究设计

[0862] GENETIC-AF是一项多基因、随机、双盲的比较疗效试验,用于具有HFrEF和AF的限定基因型的人群,即左心室射血分数(LVEF)<0.50。该试验采用了自适应设计,可以根据临时数据的审查从2B期无缝过渡到3期。该试验的原理和设计先前已有报道(31)。

[0863] 患者被随机分配接受布新洛尔或美托洛尔,并向上滴定至目标剂量(表45)。

[0864] 表45研究药物增加方案

[0865]

之前市售β-阻滞剂剂量 <sup>1</sup> 。												随机化的β-阻滞剂剂量	
美托洛尔 XL/CR (mg QD)		美托洛尔 IR (mg BID)		卡维地洛 CR (mg QD)		卡维地洛 IR (mg BID)		比索洛尔 (mg QD)		奈比洛尔 (mg QD)		美托洛尔 XL (mg QD)	布新洛尔 (mg BID)
>	≤	>	≤	>	≤	>	≤	>	≤	>	≤	=	=
-	50	-	25	-	20		6.25	-	2.5	-	1.25	25	6.25
50	100	25	50	20	40	6.25	12.5	2.5	5	1.25	2.5	50	12.5
100	200	50	100	40	80	12.5	25	5	10	2.5	5	100	25
200 <sup>3</sup>	-	100 <sup>3</sup>	-	80 <sup>3</sup>	-	25 <sup>3</sup>	-	10 <sup>3</sup>	-	5	10 <sup>3</sup>	200	50
-	-	-	-			-	-			-	-	200	100 <sup>2</sup>
研究药物的起始剂量过渡 →→→												向上滴定 ↓	
<sup>1</sup> 从上述以外的β受体阻滞剂过渡需要在随机化分组之前获得申办者或其指定人的批准。 <sup>2</sup> 在随机化分组时体重<75 kg的患者将接受50 mg BID的最大布新洛尔剂量。 <sup>3</sup> 接受高于目前批准剂量的市售β阻滞剂的患者,需要在随机化分组之前获得申办者或其指定人员的预先批准。													

[0866] 在向上滴定之后,需要时进行电击转复律(ECV)以在随访开始之前建立窦性心律。在24周的随访期间,每4周通过12导联心电图(ECG)监测心律(图2)。前瞻性定义的装置亚研

究允许连续监测心律,以评估AF负担。亚研究的参与者具有早先存在的有心房电极的Medtronic起搏器或除颤器,或者在随访开始之前植入了Medtronic Reveal LINQ可插入式心脏监护仪(ICM)。第24周后,患者继续接受设盲的研究药物,每12周进行一次临床访视,以评估疗效和安全性。

[0867] 患者在过去12个月中评估为HFrEF,LVEF<0.50,在过去180天内出现症状性阵发性或持续性心房颤动,并且正在接受最佳抗凝治疗以预防卒中。筛选时对患者进行基因分型,ADRB1 Arg389Arg的患者有资格进行随机化。

[0868] 排除标准包括纽约心脏协会(NYHA)IV级症状、临床上明显的液体超负荷、持续性AF(持续性AF事件>1年)、过去7天的抗心律失常疗法、先前的房室结消融术、高级房室传导阻滞、在过去30天内的针对AF的导管消融术或心房扑动(AFL),以及先前对β-阻滞剂治疗的不耐受或禁忌。有关试验入选标准的详细信息先前已有报道(31)。

[0869] 活性比较试剂琥珀酸美托洛尔(Toprol-XL)是选择性的β1肾上腺素能受体阻滞剂,可用于治疗HF。选择美托洛尔作为活性比较试剂,以确保与先前的HF试验连续进行,并且已证明美托洛尔在预防HFrEF患者的心房颤动方面具有有效性(12,93),但似乎未赋予ADRB1 Arg389Arg基因型患者增强的益处(26,25)。

[0870] 患者被随机分配(1:1)接受布新洛尔或美托洛尔治疗,布新洛尔或美托洛尔被过度包封以维持设盲。由于布新洛尔每天两次给药(BID),美托洛尔每天给药一次(qd),因此美托洛尔组包括安慰剂剂量,所有研究药物每天两次给药。通过HF病因学(缺血性,非缺血性)、LVEF(<0.35,≥0.35)、装置类型(ICM,起搏器/除颤器,无装置)和随机化心律(窦性心律,AF/AFL)来进行随机化的集中和分层,使用16000个随机生成的数字,块大小为4。每周对研究药物进行滴定,以达到布新洛尔(16)的目标剂量为100mg BID(如果<75kg,则为50mg BID),而美托洛尔(15)的每日剂量为200mg qd。有关更多详细信息,请参见表45。随访期间经历AF/AFL的患者仍使用设盲的研究药物,可以进行ECV、消融术或使用胺碘酮或多非利特开始治疗。

[0871] 通过RT-PCR测定从全血中提取的DNA中的ADRB1 Arg389Gly基因型。用高压液相色谱-电化学检测法测定全身静脉血浆去甲肾上腺素,电化学发光免疫法测定静脉血浆NT-proBNP。

[0872] 研究设计、进行和表现由11人组成的指导委员会进行监督,并由3人组成的数据和风险监控委员会(DSMB)进行监督,该委员会还进行了中期疗效分析。该方案已获得机构审查委员会/道德委员会的批准,并且所有患者均提供了书面知情同意书。

## [0873] 2、统计分析

[0874] 对于中期分析,所关注的终点是24周随访期期间的首次AF/AFL事件的时间或全因死亡(ACM)的时间。计划的3期研究的主要终点是症状性AF/AFL或ACM的时间,AF/AFL或ACM的症状是由针对研究的调查问卷所收集的。对治疗分配不知情的临床事件委员会裁定首次出现AF/AFL终点,包括新症状或恶化症状的关联。3期的样本量假设美托洛尔组的事件发生率为60%,布新洛尔的相对风险降低25%,并且在约620名患者中,α=0.01时90%的功效累积了330例主要事件。

[0875] 对于未经历事件的患者,根据意向治疗进行疗效分析,并在24周时进行审查。由Cox比例风险模型确定风险比(HR)和95%置信区间(CI)值,并调整了四个随机分层,并将治

疗作为协变量。优势测试使用0.05的双向显著性水平。随访开始前死亡的患者和ECV后没有建立窦性心律的患者指定为第1天出现事件。如果患者处于AF/AFL状态且未进行ECV步骤，或者在开始随访之前退出研究，则在第1天接受审。

[0876] 通过精确治疗表型研究了在GENETIC-AF统计分析计划(SAP)中确定的可能作为主要终点指标的变量。基于假设的(例如,AF持续时间、AF类型、LVEF、NYHA类、NT-proBNP、去甲肾上腺素)和无假设的(例如HF持续时间、初始研究剂量)要素被包括在多变量方法中,其被应用于明显和不明显数据来确定适合在3期进行研究的治疗表型。为了检查心力衰竭持续时间与布新洛尔降低心力衰竭事件发生率之间的关系,分析了BEST试验(14)和药物遗传学研究(17)的数据,确定了全因死亡率或首次心力衰竭住院(ACM/HFH)的时间终点。

[0877] 按照主要终点的类似方法,在装置亚研究中评估首次发生AF/AFL或ACM的时间,并通过连续监测将AF/AFL事件的前瞻性定义为每天AF负担 $\geq 6$ 小时。先前已证明六小时的心房颤动负担与心力衰竭的住院率增加相关(18)。由于亚研究中的样本量较小,因此根据Cox比例风险模型确定治疗效果估计值,而无需调整随机分层。

[0878] 在适当的情况下,通过t检验或ANOVA分析正态分布的连续变量。基线和DTRI数据的神经激素变化通过威尔科克森秩和检验进行分析,组间差异通过威尔科克森秩和检验进行分析。分类变量差异通过卡方检验或费舍尔精确检验进行评估。

[0879] 中期分析检查了初始2B期人群的数据。如果DSMB确定数据与预审假设一致,则该试验将无缝进行至3期(请参阅SAP)。为了帮助进行信号检测,生成了贝叶斯预测成功概率的预估值(94,95),并将其与每个潜在结果(即3期过渡,2B期完成或徒劳无用)的预定阈值进行比较。根据中期分析,DSMB建议完成2B期,以下是该人群的数据。

[0880] B. 结果

[0881] 1、人口和基线特征

[0882] 该试验于2014年4月至2017年12月在6个国家(加拿大,匈牙利,荷兰,波兰,塞尔维亚和美国)的92个中心进行。总共筛选了760名患者(图20);362例(48%)由于基因型而未能通过筛查,73例(9.6%)不符合其他入选条件,58例(7.6%)由于其他原因而未能通过(例如,撤回同意,未进行随访)。其余267位患者被随机分配研究药物,并向上滴定至目标剂量。两组的依从性均 $>90\%$ ,与美托洛尔相比,达到布新洛尔的目标剂量的患者比例更高(分别为84%和72%; $p=0.035$ )。

[0883] 各治疗组之间的基线特征平衡良好(表42)。平均LVEF为 $0.36 \pm 0.10$ ,基线时有72%患有NYHA II或III症状,基线时有51%患有持续性AF,血浆NT-proBNP升高(中位数=801pg/ml;四分位间距(IQR):384,1420)。46%的患者需要ECV才能在随访开始之前建立窦性心律。所有患者中约一半(48%)植入了监测装置,其中包括为试验插入的ICM(16%)和预先存在的起搏器或除颤器(32%)。

[0884] 表42基线特征

参数	整体研究			装置亚研究		
	全部患者 N = 267	布新洛尔 N = 134	美托洛尔 N = 133	全部患者 N = 69	布新洛尔 N = 35	美托洛尔 N = 34
年龄, 岁	65.6 ± 10.1	65.8 ± 10.3	65.5 ± 10.0	66.1 ± 10.7	65.5 ± 11.5	66.8 ± 9.9
男性/女性, %	82/18	83/17	81/19	93/7	94/6	91/9
种族W/B/A/O, %	96/2/1/1	96/1/1/2	96/2/1/1	96/1/1/2	94/0/3/3	97/3/0/0
LVEF	0.36 ± 0.10	0.36 ± 0.10	0.36 ± 0.10	0.34 ± 0.08	0.33 ± 0.08	0.36 ± 0.09
NYHA I/II/III, %	28/57/15	30/60/10	26/54/20	23/57/20	29/49/23	18/65/18
缺血性HF/ 非缺血性HF, %	32/68	31/69	33/67	28/72	29/71	26/74
处于AF下的随机化分组/ 不处于AF下的随机化 分组, %	51/49	49/51	52/48	65/35	63/37	68/32
持续性AF/阵发性 AF, %	51/49	51/49	51/49	64/36	63/37	65/35
HF DxT持续时间, 天	1153 ± 1909	1252 ± 2070	1054 ± 1733	1168 ± 1723	1208 ± 1880	1126 ± 1572
[0885] AF DxT持续时间, 天	1306 ± 2240	1431 ± 2271	1180 ± 2209	1355 ± 1984	1444 ± 1997	1263 ± 1995
收缩压, mm Hg	123.3 ± 15.3	124.7 ± 14.9	121.8 ± 15.7	123.3 ± 15.1	122.4 ± 15.7	124.2 ± 14.5
舒张压, mmHg	75.3 ± 10.8	75.8 ± 11.0	74.8 ± 10.6	75.0 ± 10.1	73.7 ± 9.9	76.3 ± 10.3
心率, bpm	76.3 ± 17.8	76.5 ± 17.9	76.0 ± 17.7	78.4 ± 17.2	76.8 ± 16.4	80.1 ± 18.1
先前的ECV/AF 消融术/III类 AAD, %	49/21/48	49/21/50	50/20/46	55/13/54	57/17/57	53/9/50
装置类型: ICM/PM/ICD, %	16/17/15	17/15/18	15/20/12	62/22/16	66/20/14	59/24/18
去甲肾上腺素, pg/ml	673 ± 353	682 ± 348	664 ± 359	706 ± 368	710 ± 398	702 ± 339
NT-proBNP, pg/ml, 中值(IQR)	801 (384, 1420)	777 (355, 1326)	861 (420,1607)	996 (457, 1645)	923 (365, 1506)	1013 (537, 1806)
W/B/A/O=白种人/黑种人/亚洲人/其他。HF DxT 持续时间=从HF诊断到随机化分组时间。 AF DxT 持续时间=从AF诊断到随机化分组时间。ECV=电击转复律。AAD=抗心律失常的药物。 ICM=可插入的心脏监视器。ICD=植入心脏除颤器。PM=起搏器。IQR=四分位差。 注释: 除非另外指明, 提供平均值±标准差。						

## [0886] 2、疗效结果

[0887] 总共观察到了143个事件的疗效终点, 包括121个AF/AFL事件, 19个ECV衰竭和3例死亡。不知情的临床事件委员会将几乎所有AF/AFL事件均判定为症状性(114/121; 94%)。布新洛尔和美托洛尔组的事件发生率相似(分别为54%和53%), 协变量调整后的Cox比例风险模型的HR为1.01 (95%CI: 0.71, 1.42) (图21)。在对区域亚组的一项预先指定的分析(统计分析计划和2B期修正) (表43, 图26)中, 在美国亚组中观察到布新洛尔相比美托洛尔获益的趋势(HR=0.70; 95%CI: 0.41, 1.19), 在加拿大(HR=1.52; 95%CI: 0.68, 3.43)或欧洲(HR=1.01; 95%CI: 0.48, 2.14)中未观察到。

[0888] 表43治疗紧急的不良事件



[0889]

群体	HF DxT (年)		AF DxT (年)		DTRI (年)			AF/AFL/ACM时间	
	平均数	中位数	平均数	中位数	平均数	中位数	P值*	分层 HR (95% CI)	不分层 HR (95% CI)
美国 (N=127)	4.5	1.5	3.4	1.0	1.1	0.0	-	0.70 (0.41, 1.19)	0.77 (0.48, 1.22)
非-美国 (N=140)	2.0	0.4	3.8	0.9	-1.8	0.0	0.0005	1.34 (0.79, 2.28)	1.22 (0.76, 1.96)
加拿大 (N=59)	2.5	0.5	3.4	0.6	-0.9	0.0	0.024	1.52 (0.68, 3.43)	1.42 (0.72, 2.79)
欧洲 (N=81)	1.6	0.4	4.0	1.7	-2.4	0.0	0.0009	1.01 (0.48, 2.14)	1.06 (0.55, 2.07)
匈牙利 (N=33)	1.5	0.3	7.5	4.1	-5.9	-2.8	<0.0001	2.90 (0.71, 11.8)	3.57 (0.99, 12.9)
波兰 (N=23)	1.6	0.9	1.4	0.7	0.3	0.0	0.590	0.25 (0.03, 2.22)	0.28 (0.07, 1.14)
塞尔维亚 (N=21)	0.4	0.3	0.9	0.4	-0.5	0.0	0.175	0.42 (0.08, 2.18)	0.59 (0.15, 2.36)
荷兰 (N=4)	8.0	7.1	6.4	3.8	1.6	-0.1	ND	ND	ND

AF DxT =从AF诊断到随机化分组时间。HF DxT =从HF诊断到随机化分组时间。  
 DTRI=诊断到随机化分组指数； DTRI=HF DxT - AF DxT。  
 \*用于与美国队列对比的Wilcoxon秩和检验。

[0890] 3、装置亚研究

[0891] 装置亚研究包括来自美国 (N=42)，加拿大 (N=21) 和欧洲 (n=6) 的69名患者，他们接受了连续的心律监测。在该试验中，有43例患者插入了心脏监护仪，而26例患者已装有起搏器或植入式心脏复律除颤器 (ICD)。该亚研究的基线特征在两组之间达到了很好的平衡，并且总体上与人群总体相似 (表42)。然而，与人群总体相比，该亚研究的男性比例更高 (93%比82%)，持续性心房颤动 (64%比51%) 和随机化时的心房颤动 (65%比51%) 比例更高。

[0892] 按照相似的主要终点方法，在装置亚研究中对首次发生AF/AFL或ACM事件的时间进行了分析。如图22所示，通过基于装置的检测观察到布新洛尔相比于美托洛尔获益的趋势 (HR=0.75; 95%CI:0.43, 1.32)。当通过基于临床的间歇性12导联心电图评估亚研究人群时，观察到相似的结果 (HR=0.69; 95%CI:0.38, 1.23)；但是，装置检测到的终点通常早于基于ECG的终点 (中位数=6.5天; p<0.0001)。为了检测随后的心电图确定的心房颤动，≥6小时的心房颤动负担的敏感性为100%，特异性为87%，准确度为96%。

[0893] 4、按地区划分的患者特征和治疗反应

[0894] 在美国和非美国队列中观察到的治疗反应差异促使按地区检查基线特征 (表46)。总的来说，与美国队列相比，非美国队列的HF严重程度较低，LVEF (0.39与0.33)、收缩压 (126mmHg与120mmHg) 和NYHA I类症状 (39%与17%) 明显较高，以及显著降低的血浆NT-proBNP (1135pg/mL与1380pg/mL) 和NYHA III类症状 (5%与26%)。值得注意的是，在非美国队列中，患者诊断为HF的时间更近 (表43)，从HF诊断到随机化的平均时间少于美国组的一半 (2.0年与4.5年)；两组之间从AF诊断到随机化的平均时间相似 (3.8年与3.4年)。

[0895] 表46按区域划分的基线

参数	美国队列 N = 127	非-美国队列 N = 140	P-值
年龄, 岁	66.3 ± 10.7	65.1 ± 9.5	0.516
男性/女性, %	87/13	78/22	0.079
种族W/B/A/O, %	93/4/1/2	99/0/1/0	0.017
LVEF	0.33 ± 0.09	0.39 ± 0.09	<0.001
NYHA I/II/III, %	17/57/26	39/56/5	<0.001
缺血性HF/非缺血性HF, %	31/69	33/67	0.896
处于AF下的随机化分组/不处于AF下的随机化分组, %	59/41	43/57	0.010
持续性AF/阵发性AF, %	52/48	50/50	0.807
AF DxT持续时间, 天	1236 ± 2192	1370 ± 2288	0.517
HF DxT持续时间, 天	1627 ± 2306	724 ± 1326	<0.001
[0896] 收缩压, mm Hg	119.9 ± 15.7	126.3 ± 14.4	0.001
舒张压, mmHg	73.8 ± 11.3	76.6 ± 10.2	0.024
心率, bpm	78.4 ± 19.4	74.4 ± 16.0	0.118
先前 ECV, %	55	44	0.041
先前的AF消融, %	17	24	0.373
先前III类AAD的使用, %	47	49	0.902
装置类型: ICM/PM/ICD, %	19/15/21	14/20/9	0.002
去甲肾上腺素, pg/ml	657 ± 373	687 ± 335	0.389
NT-proBNP, pg/ml, 中值 (IQR)	953 (488, 1506)	678 (143, 1252)	0.045
W/B/A/O=白种人/黑种人/亚洲人/其他。AF DxT =从AF诊断到随机化分组时间。 HF DxT =从HF诊断到随机化分组时间。ECV=电击转复律。AAD = 抗心律失常药物。 ICM=可插入的心脏监视器。ICD=植入心脏除颤器。PM=起搏器。IQR=四分位差。 注释: 除非另外指明, 提供平均值±标准差。Wilcoxon秩和检验用于连续值, 而Fishers Exact检验用于分类值。			

[0897] 为了量化HF和AF的初始发展之间的关系,从病例报告表中提供的信息中得出了一个被称为随机诊断指数(DTRI)的指数。该指数代表HF持续时间(即, HF诊断到随机化的时间)与AF持续时间(即, AF诊断到随机化的时间)之间的差,其中正值表示HF在AF之前发作,负值表示AF在HF之前发作。如表43所示,美国和非美国队列在以平均DTRI测得的HF和AF发作的相对时间上有显著差异( $p < 0.0005$ )。美国队列在发展AF之前具有HF平均多于一年的。而非美国队列在发生HF之前已诊断AF近2年的时间。值得注意的是,对于主要终点的布新洛尔反应与平均DTRI相关( $=0.93, p=0.020$ ),在HF发作之前具有长期AF的人群(即匈牙利和加拿大)中观察到较差的反应,而在群体中具有良好的反应在AF发展之前(即美国,波兰和塞尔维亚)出现并发或先前发作的HF。

#### [0898] 5、预测终点频率和/或与治疗相互作用的基线特征

[0899] 进行了Cox比例风险回归建模,以探究可能是主要终点指标的预定义变量(SAP)(表47)。三个变量违反了风险假设的Cox模型比例。其中,随机化时的房性心律之前曾通过随机分层来解决,而心率通常与房性心律有关。第三个变量是使用III类抗心律失常药物进行的先前治疗,之前尚未确定,在所有后续分析中作为协变量包括在内,以说明对基线风险的非比例影响。

[0900] 表47对于首次AF/AFL/ACM事件的Cox比例风险回归建模

[0901]

预测因素	双预测因素模型		三预测因素模型		
	治疗	预测因素	治疗	预测因素	治疗x预测因素
随机化分组时的心律 <sup>†</sup>	0.83	<0.001*	0.66	<0.001*	0.51
基线心率 <sup>†</sup>	0.80	<0.001*	0.96	0.042*	0.99
AF类型	0.72	0.001*	0.77	0.06	0.49
基线收缩压	0.84	0.006*	0.15	0.63	0.15
HF DxT	0.77	0.007*	0.66	0.63	0.73
初始研究剂量	0.39	0.017*	0.79	0.89	0.35
先前ECV计数	0.76	0.018*	0.37	0.78	0.30
HF病因	0.81	0.023*	0.91	0.04*	0.53
基线 NT-proBNP	0.91	0.040*	0.48	0.75	0.28
基线 NYHA 类	0.99	0.043*	0.59	0.91	0.57
AF DxT	0.83	0.07	0.18	0.14	0.025**
设备层	0.72	0.11	0.98	0.77	0.77
先前的ECV或消融术	0.79	0.13	0.51	0.13	0.52
区域	0.82	0.09	0.87	0.16	0.33
基线舒张压	0.71	0.28	0.18	0.09	0.16
先前III类AAR的使用 <sup>†</sup>	0.76	0.35	0.58	0.32	0.64
随机化分组之前的β阻滞剂	0.84	0.42	0.66	0.68	0.98
基线肌酸酐	0.82	0.48	0.30	0.19	0.26
总体先前的ECV或消融术	0.74	0.52	0.75	0.64	0.93
先前的消融术	0.78	0.62	0.83	0.14	0.19
LVEF	0.80	0.66	0.79	0.96	0.84
LVEF 层	0.80	0.68	0.74	0.89	0.82
CYP2D6	0.98	0.93	0.21	0.29	0.17
基线去甲肾上腺素	0.73	0.99	0.63	0.73	0.72

\*对于主要终点的预测, P<0.05。 \*\*对于治疗×预测因素相互作用。 †违反风险假设的比例(p<0.05)。 AF DxT=从初始AF诊断到随机化分组的时间。 HF DxT =从初始HF诊断到随机化分组的时间。 ECV=电击转复律。 AAR=抗心律失常的药物。 LVEF=左心室射血分数。 CYP=细胞色素p450。

[0902] 对于多变量分析,十个变量预测主要终点的发生。除了研究药物的初始剂量(其基于入组之前的β-阻滞剂疗法),双预测因素模型确认与HF程度或持续时间相关的5个变量(即收缩压、HF持续时间、HF病因、NT-proBNP和NYHA类),以及与心律相关的4个变量(即随机化时的心律、基线心率、AF类型和先前ECV数量)。p值<0.05的治疗相互作用变量唯一预测因素是从初始AF诊断到随机化的持续时间(即AF DxT)。

[0903] 从初始HF诊断到随机化(即HF DxT)的时间是主要终点发生的重要预测因素,但不能通过主要终点的Cox建模预测治疗或通过预测因素相互作用进行治疗(表47)。但是,由于AF DxT预测了布新洛尔可预防AF复发,因此检查了安慰剂对照BEST HF试验的数据(14),以确定HF DxT与布新洛尔反应对于HF终点,ACM或首次HF住院治疗(HFH)的是否具有相似的关系。如图26所示,在HF DxT上限值较大(即在随机分组之前纳入长期HF)的群体中,观察到BEST ACM/HFH终点的治疗反应减弱。在整个群体(N=2708;r=-0.82;95%CI:-0.92,-0.59)和ADRB1 Arg389Arg亚组(N=493;r=0.79;95%CI)中均观察到这种强烈的负相关性:-0.91,-0.54)。

[0904] 6、AF和HF的持续时间和相对发作对治疗效果的影响

[0905] 为了进一步检查在上述分析中确定的AF和HF持续时间的影响构建了3维图,以GENETIC-AF主要终点的治疗效果(即1危险比)作为因变量(z轴),HF DxT(x轴)和AF DxT(y轴)作为自变量。如图23A所示,治疗效果的减弱与AF和HF DxT值的增加有关。当使用等效

DxT值(HF和AF的DxT值都必须小于x轴上的时间点持续时间)来检查AF和HF持续时间的组合影响时(图27),观察到很强的负相关性( $r = -0.94$ ;95%CI:0.97, -0.89),对于包括一小部分AF和HF持续时间均大于12-15年的患者,可看出治疗效果显著减弱。

[0906] 为了检查AF和HF相对发作对治疗效果的影响,构建了以治疗效果作为因变量(z轴)和DTRI下界的绝对值(即AF的年限)和DTRI上限(即,AF前HF的年数),并作为独立变量。如图23B所示,治疗效果随DTRI下限和上限的绝对值增加而减弱(即初始AF和HF之间的增加时间)。当使用DTRI下限和上限的等效绝对值来检查同时发生AF和HF的概念时(图28A),与治疗效果几乎呈线性负相关( $r = -0.96$ ;95%CI: -0.98), -0.92)。

#### [0907] 7、在精确治疗选择的表型中预防AF复发

[0908] AF和HF的持续时间和相对发作是间接相关的特征,可能具有累加和/或重叠效应。因此,检查了它们的组合使用,以确定适合进一步研究的精确治疗表型。

[0909] 在下面显示的实例中,选择了AF和HF DxT<12岁的人群(即DxT12群体),因为该临界值保留了总人群的高比例(86%),同时将观察到的治疗效果的衰减降至最低。然后,将DTRI的下限设为-2年(即,AF距HF不超过2年;DxT12/DTRI-2群体),因为该临界值保留了DxT12队列的85%。如图29所示,当在DxT12背景中检查时,不需要限制DTRI上限(即,AF之前的HF年数)。

[0910] 表48a中显示了DxT12和DxT12/DTRI-2群体的患者特征。表48b列出了患者人群的其他特征。被DxT12标准排除的患者具有与长期AF和HF相一致的特征;而被DTRI>-2年标准排除的人群具有与长期AF作为主要诊断和治疗史的特征,主要是轻度的左心功能不全。值得注意的是,AF和HF同时发展的患者(即DTRI值为零的2年内)占230名DxT12群体(“包括DTRI”)中的大多数;而在DxT12标准排除的37位患者群体中(即在随机化分组之前首次诊断为AF和HF $\geq 12$ 年的患者中),明显缺少值 $\pm 2$ 岁的DTRI患者(图28B)。直到DxT截止期限限制为<6年,才有大量(>10)DTRI值 $\pm 2$ 年的患者聚集(数据未显示)。

[0911] 表48a. 所选基因型的基线特征

[0912]

参数	AF12/HF12			AF12/HF12/DTRI-2		
	包括的 N=230	排除的 N=37	P-值	排除的 N=196	排除的 N=34	P-值
年龄,岁	64.9 ± 10.2	70.1 ± 8.4	0.012	65.2 ± 9.9	63.1 ± 11.8	0.435
男性/女性, %	80/20	95/5	0.036	80/20	79/21	1.000
种族W/B/A/O, %	97/2/0/1	95/0/0/5	0.087	96/2/1/1	97/3/0/0	0.728
LVEF	36.6 ± 9.4	33.4 ± 10.5	0.104	36.0 ± 9.3	39.8 ± 9.6	0.010
NYHA I/II/III, %	30/57/13	6/59/24	0.099	28/57/15	41/56/3	0.074
缺血性HF/非缺血性HF, %	30/70	43/57	0.132	32/68	21/79	0.227
处于AF下的随机化分组/不处于AF下的随机化分组, %	47/53	73/27	0.004	48/52	41/59	0.577
持续性AF/阵发性AF, %	49/51	62/38	0.159	48/52	56/44	0.459
AF DxT, 天	770 ± 983	4642 ± 4201	<0.001	539 ± 787	2098 ± 955	<0.001
HF DxT, 天	698 ± 1012	3988 ± 3289	<0.001	778 ± 1064	231 ± 402	<0.001
收缩压, mmHg	124.0 ± 15.0	118.9 ± 16.7	0.094	123.9 ± 15.4	124.5 ± 13.1	0.827
舒张压, mmHg	75.7 ± 10.2	72.6 ± 13.7	0.090	75.3 ± 10.4	78.0 ± 9.3	0.093
心率, bpm	76.2 ± 18.3	76.6 ± 14.3	0.61	75.7 ± 18.5	79.4 ± 16.9	0.223
先前ECV (0, 1, 2+), %	51/28/20	46/22/32	0.263	52/31/18	50/15/35	0.032
先前AF消融术(0, 1, 2+), %	82/13/5	62/27/11	0.017	85/11/4	65/24/12	0.010
先前I类AAD的使用: Y/N, %	8/92	8/92	1.000	6/94	21/79	0.008
先前III类AAD的使用: Y/N, %	46/54	59/41	0.157	42/58	71/29	0.003
设备类型: None/ILR/TD, %	55/18/27	32/3/65	<0.001	55/17/28	53/26/21	0.347
去甲肾上腺素, pg/ml	646 ± 311	839 ± 519	0.030	656 ± 316	585 ± 278	0.243
NT-proBNP, pg/ml, 中值(IQR)	769 (372, 1338)	1044 (528, 1983)	0.043	790 (392, 1387)	588 (263, 1147)	0.266

AF12/HF12=AF DxT 和HF DxT < 12年。AF12/HF12/DTRI-2=AF12/HF12 和DTRI > -2年。W/B/A/O=白种人/黑种人/亚洲人/其他。ECV=电击转复律。AAD=抗心律失常的药物。ILR=植入循环记录器。TD=治疗设备(植入心脏除颤器或起搏器)。IQR=四分位差。AF DxT =从初始AF诊断到随机化分组时间。HF DxT =从初始HF诊断到随机化分组的时间。DTRI=诊断到随机化分组指数。注释: 除非另外指明, 提供平均值±标准差。Wilcoxon秩和检验用于连续值, 而Fishers Exact检验用于分类值。

[0913] 表48b: HFmrEF和HF1rEF亚群的基线特征

[0914]

参数(±SD)	HFmrEF 40% ≤ LVEF < 50% N=126	HF1rEF LVEF < 40% N = 141	p值
年龄,岁	65.9 ± 0.88	65.4 ± 0.87	0.600
男性/女性, %	76/24	87/13	0.025
种族W/B/A/O, %	99/1/0/0	94/3/1/2	0.231
LVEF	44.7 ± 0.3	28.5 ± 0.5	< 0.001
NYHA I/II/III, %	42/52/6/0	16/62/23/0	< 0.001
缺血性HF/非缺血性HF, %	29/71	35/65	0.361
处于AF下的随机化分组/不处于AF下的随机化分组, %	44/56	57/43	0.037
持续性AF/阵发性AF, %	50/50	52/48	0.807
AF Dx持续时间,天	1398 ± 202	1224 ± 186	0.032
HF Dx持续时间,天	678 ± 141	1578 ± 174	< 0.001
DTRI, 天	-720 ± 238	355 ± 213	< 0.001
收缩压, mm Hg	127.1 ± 1.2	119.9 ± 1.3	< 0.001
舒张压, mmHg	77.1 ± 1.0	73.7 ± 0.9	0.005
心率, bpm	74.0 ± 1.5	78.3 ± 1.5	0.034
先前ECV, %	52	48	0.796
先前的AF消融, %	23	18	0.433
先前I类AAD的使用, %	14	2	< 0.001
先前III类AAD的使用, %	49	47	0.714
先前诺欣妥(Entresto)的使用, %	1	7	0.011
研究期间诺欣妥的使用, %	4	14	0.005
设备类型: ILR/CRT/ICD/PM, %	16/3/6/15	16/12/23/4	< 0.001
去甲肾上腺素, pg/ml	653 ± 27	692 ± 33	0.588
NT-proBNP, pg/ml	872 ± 88	1599 ± 172	< 0.001

W/B/A/O=白种人/黑种人/亚洲人/其他。ECV=电击转复律。AAD = 抗心律失常药物。ILR=植入循环记录器。CRT = 心脏再同步治疗。ICD=植入心脏除颤器。PM=起搏器。注释: 除非另外指明, 提供平均值±标准差。Wilcoxon秩和检验用于连续值, 而Fishers Exact检验用于分类值。

[0915] 图24显示了DxT12/DTRI-2群体 (N=196) 发生AF/AFL/ACM首次事件的时间的主要终点。在HF1rEF患者 (LVEF<0.50) 中, 基于ECG的检测的HR为0.54 (95%CI:0.33, 0.87), 通过基于装置的检测的HR (0.59; 95%CI:0.30, 1.19; N=49)。在中射血分数 (HFmrEF; LVEF ≥ 0.40 并且 < 0.50) 的HF患者中, HR为0.42 (95%CI:0.21, 0.86; p=0.017); 在低射血分数 (HF1rEF; LVEF<0.40) 的HF患者中HR为0.69 (95%CI:0.33, 1.43; p=0.32)。由于样本量很小, 因此未提供基于装置的HFmrEF和HF1rEF估计。更详细的信息参见表49。

[0916] 表49LVEF的亚群的AF/AFL/ACM的首次事件时间

[0917]

群体	HF1rEF LVEF < 0.50		HFmrEF 0.40 ≤ LVEF < 0.50		HF1rEF LVEF < 0.40	
	N (%)	HR (95% CI)	N (%) {群体中的%}	HR (95% CI)	N (%) {群体中的%}	HR (95% CI)
全部患者	267 (100)	0.92 (0.63, 1.33)	128 (100) {48}	0.78 (0.45, 1.33)	139 (100) {52}	1.03 (0.58, 1.83)
AF12/HF12	230 (86)	0.68 (0.45, 1.02)	113 (88) {49}	0.61 (0.34, 1.10)	117 (84) {51}	0.74 (0.38, 1.44)
AF12/HF12/DTRI-2	196 (73)	0.54 (0.33, 0.87)	91 (71) {46}	0.42 (0.21, 0.86)	107 (77) {54}	0.69 (0.33, 1.43)

AF12/HF12=AF/HF DxT < 12年; 12/12/DTRI-2=AF/HF DxT < 12年和DTRI > -2年。  
具有降低LVEF的HF1rEF=HF; 具有中等范围LVEF的HFmrEF=HF; 具有低范围LVEF的HF1rEF=HF。  
DTRI=诊断到随机化分组指数。

[0918] 8、对去甲肾上腺素和NT-proBNP的影响

[0919] 布新洛尔 (682 ± 348pg/ml, n=128) 和美托洛尔 (664 ± 359pg/ml, n=134) 组在基线处的血浆去甲肾上腺素相似。在第4周, 布新洛尔组的基线水平显著降低 (-124 ± 26pg/ml; p<0.001), 而美托洛尔组未观察到显著降低 (36 ± 32pg/ml; p=0.30)。两组之间在第4周

的基线变化显著不同 ( $p=0.012$ )。

[0920] 血浆NT-proBNP在两组中均非正态分布,基线时的中值相似(777和861pg/ml,  $p=0.38$ ;表50)。在第4周(96pg/ml;  $p=0.003$ )和第12周(96pg/ml;  $p=0.002$ )时,布新洛尔组较基线有显著下降,而美托洛尔组未观察到。在第24周时,布新洛尔(197pg/ml;  $p=0.005$ )和美托洛尔(-100pg/ml;  $p=0.014$ )组均观察到相对于基线值的显著降低,但与基线相比变化在两组之间无显著差异( $p=0.220$ )。

[0921] 表50NT-proBNP值(pg/ml) ‡

参数	美托洛尔 N = 123	布新洛尔 N = 125
基线	861 (420, 1607)	777 (355, 1326)
P 值 vs. Met†	NA	0.378
Δ第4周	-35 (-384, 246)	-96 (-431, 70)
P 值 vs. Bsl*	0.320	0.003
P 值 vs. Met†	NA	0.300
Δ第12周	-50 (-610, 303)	-96 (-482, 69)
P 值 vs. Bsl*	0.198	0.002
P 值 vs. Met†	NA	0.051
Δ第24周	-100 (-634, 117)	-197 (-613, 115)
P 值 vs. Bsl*	0.014	0.005
P 值 vs. Met†	NA	0.220
‡由于非正态分布而出现的中位数和四分位数范围; * Wilcoxon符号秩和检验; †Wilcoxon秩和检验; Δ=从基线变化。		

[0923] 9、安全

[0924] 两组中发生不良事件(AE)的患者比例相似(表44)。美托洛尔组中有更多的患者出现症状性心动过缓或心动过缓,从而导致剂量降低或停止研究药物的使用比布新洛尔组高(9.0%vs.3.0%;  $p=0.042$ )。每组中有三名(2.3%)患者在接受研究药物时或在最后一次服药后30天内死亡。---美托洛尔组的所有死亡均发生在主要终点期间(恶化的HF天25天;心脏猝死43天;机动车事故77天)。布新洛尔组的所有死亡均发生在长期扩展期(呼吸衰竭第385天;猝死第535天;心脏压塞第779天)。---布新洛尔和美托洛尔组的HF住院率(7.5%vs.8.3%)和ACM/HF住院率(8.2%vs.9.0%)相似。任一治疗组均未发生卒中,随机分组前有93%的患者接受口服抗凝剂治疗。

[0925] 表44治疗紧急的不良事件

终点	布新洛尔	美托洛尔
[0926]		



	(N=134)	(N=133)
任何不良事件(AE)	100 (74.6%)	95 (71.4%)
可能与研究药物相关的 AE	32 (23.9%)	40 (30.1%)
导致永久性研究药物停用的 AE	11 (8.2%)	11 (8.3%)
导致研究取消(排除死亡)的 AE	2 (1.5%)	2 (1.5%)
导致剂量减少 或终止研究药物的症状性心动过缓或心动 过缓的 AE	4 (3.0%)	12 (9.0%)
任何严重的不良事件	34 (25.4%)	27 (20.3%)
导致死亡的 AE	3 (2.3%)	3 (2.3%)
在最后一次服用研究药物后的 30 天内，从随机分组中得出数据。		

[0927] C. 分析

[0928] 如果来自2B期研究的证据表明功效可能扩展至3期样本量，则GENETIC-AF试验被设计为一项自适应、随机化、对照试验，可用于全面的3期研究比较(19)。在2B期分析中，与美托洛尔相比，药物遗传学上指导的布新洛尔并未降低AF/AFL/ACM的复发率。然而，在关键的亚组中观察到了布新洛尔的获益趋势，特别是在那些没有长期且在发生HF之前经过长期治疗的AF患者中。在HF发病之前被诊断出患有长期AF的较低比例的患者可能对美国和装置亚研究的患者(主要是在美国入组的患者)产生了布新洛尔有利的治疗效果。除了与研究药物相关的发现外，该研究还具有一些与在临床试验中检测AF有关的重要发现。

[0929] GENETIC-AF在心血管疾病(尤其是AF)的药物遗传学研究中也代表了多个首次。它是心房颤动心律控制疗法中第一个以药理遗传学为目标的随机对照试验。

[0930] 此外，这是第一个预防HF<sub>rEF</sub>复发性AF的药物学试验，HF<sub>rEF</sub>定义为任何HFEF降低的HF(98)。这也是第一个将AF负担与症状性AF/AFL进行比较的研究，该症状性AF/AFL由症状和ECG数据的裁定。最后，它代表了首例比较性的β-阻滞剂试验，纳入了中程射血分数(HF<sub>mrEF</sub>)为LVEF≥0.40且<0.50的HF患者(99)。

[0931] 关于这一HF<sub>rEF</sub>人群的AF，从GENETIC-AF有几个重要发现。例如，几乎所有经历过AF复发的患者都有症状性AF，这是由不知情的临床事件委员会裁定的新症状或恶化症状。最近，在临床实践中，AF诊断方法也引起了极大的关注，包括遥测和基于装置的技术(96, 97)。装置亚研究将AF/AFL事件定义为每天AF负担≥6小时，因为以前已经证明这种负担与HF的住院率增加相关(34)。发现连续监测记录的每天AF负担≥6小时对临床症状性AF/AFL

表现出高的预测准确性,并且倾向于比间歇性ECG监测更早发现这些事件。

[0933] 该试验筛查的大约一半患者具有ADRB1 Arg389Arg基因型,与以前的发现一致(17、19、13、26)。在该基因型中,仅存在去甲肾上腺素高亲和力的 $\beta$ 1Arg389受体,而布新洛尔再次被观察到为抗交感神经药物的良好作用提供了底物(19)。治疗4周后,布新洛尔可降低血浆去甲肾上腺素水平,而美托洛尔则未观察到。布新洛尔治疗后血浆NT-proBNP水平也显著降低,而美托洛尔则没有。这些数据表明,在试验中有效的药物动力学特征对布新洛尔的药代学分化有作用。

[0934] 还值得注意的是,布新洛尔没有发现安全隐患。在两个治疗组中观察到相似的死亡率和住院率,尽管检测罕见事件的能力(power)有限。值得关注的是,布新洛尔组的心动过缓显著降低,这表明在ADRB1 Arg389Arg基因型患者中,布新洛尔可能比美托洛尔引起更少的心动过缓。

[0935] 2期临床试验的主要目标是进一步完善将在3期进行研究的研究人群。为此,进行了精确治疗表型或“个体治疗效果模型”(98)的练习,旨在识别与布新洛尔的有益治疗效果相关的既定的明显变量和非明显变量。对区域亚组观察到的导致反应异质性的因素的探究研究了随机分组之前AF和HF发作的时间和AF和HF相对于彼此发作的时间。这确定了两个与布新洛尔反应减弱密切相关的变量:

[0936] 1)从初次诊断HF和AF到随机化分组(即DxT)的时间间隔;以及2)相对于最初的HF诊断(即DTRI)的AF发作。以前有报道,AF持续时间可调节ECV后对其他药物疗法和导管消融(38)的反应(99)。对HF持续时间可能如何影响药物治疗以及在伴发AF的HF患者中这两个变量如何相互作用不太了解。还应该注意的,GENETIC-AF比较了在随机化分组之前长期分配给该人群(在某些情况下已经使用了多年)的两种药物。因此,可能是由于组合(2)对死亡率的不利影响导致在彼此的数年内出现AF和HF的患者的流失,从而导致幸存者效应,这可能导致某些亚群的组成发生改变(即,即那些具有长期AF/HF DxT的患者(图28B),其影响治疗反应的方式(图29)。如果AF和HF同时发生的关系最适合布新洛尔维持窦性心律,这可能与两种情况在一定程度上接近时肾上腺素能活动较高有关(13、3),那么这将解释分析中确认的表型。替代地或另外地,当AF在HF之前或相对于HF占支配地位时,DTRI效应也可能基于心房颤动和心室病理生理学的差异而具有生物学起源,心房颤动间质纤维化的主要差异是AF更为突出的特征(100,72)。

[0937] 对于试图观察相同药物类别中两种药物之间差异反应的比较功效研究,至关重要的是要确定对药物类别整体反应具有高潜力的研究人群。这是必要的,因为根据定义,差异反应是对特定药物总体反应的一部分,因此在给定的研究人群中更难观察到。在这项具有有限样本量和统计能力的探索性2期试验中,基于基因定位确定了对两种 $\beta$ -阻滞剂有不同反应的HF人群。该方法通过评估候选变量的整个连续范围内的趋势的单调性和趋势的一致性,从而规避了与常规子集分析相关的潜在问题,从而使分类器易于进行数值校准。建议增加表型选择标准的容许变异极限(即耐受性)会增加这些结果在未来研究中可重复性的可能性。

[0938] D. 结论

[0939] 在药物遗传学指导的心律控制干预的第一项试验中,与美托洛尔相比,布新洛尔在总体人群中并未降低AF/AFL或ACM的复发率。然而,精确的治疗表型分析确定了具有

ADRB1 Arg389Arg基因型的大量HF患者,对于预防AF/AFL,它们与美托洛尔相比对布新洛尔的反应不同。这项经验强调了进行由异类群体组成的相对较大的2期研究的实用性,以生成确定适合3期研究的适当治疗表型所必需的数据。

#### [0940] E. 临床前景

[0941] 心房颤动(AF)和心力衰竭(HF)的交集很常见,会使每种疾病的预后恶化,并且缺乏有效,易于管理和安全的药物治疗。在BEST试验的药物遗传学亚研究中,针对具有ADRB1 Arg389Arg基因型的患者的安慰剂,第4代 $\beta$ -阻滞剂布新洛尔可将发生AF的风险降低74%,从而使获得的2期试验GENETIC-AF的设计和性能中,267例高AF风险的高危HF<sub>rEF</sub>患者被随机分配至布新洛尔与常规第二代复方琥珀酸美托洛尔。总体而言,疗效无差异(风险比(HR)为1.01;95%CI:0.71,1.42),但在美国亚组(N=127;HR=0.70;95%CI:0.41,1.19)和植入器械的患者(N=69;HR=0.75;95%CI:0.43,1.32)中观察到布新洛尔有获益的趋势。

[0942] 该试验显示出明显的区域异质性,这归因于两个国家大多数进组患者的AF诊断早于心力衰竭多年;在那些具有更为同时出现AF和HF的入组患者的国家,布新洛尔的疗效信号为阳性。

#### [0943] F. 转型展望

[0944] 布新洛尔相对于传统的 $\beta$ -阻滞剂在基因型ADRB1 Arg389Arg的HF<sub>rEF</sub>患者中预防AF和减少HF事件方面的优势的理论基础是其对 $\beta_1$ -肾上腺素能受体更高功能的Arg389多态性变体的更有力抑制作用。

[0945] ADRB1 Arg389Gly多态性在其他物种中不存在,但可以并且已经通过小鼠中的转基因过表达进行了研究。就逆向翻译的潜力而言,GENETIC-AF中的精确治疗表型确定了一群在心律失常发生于心律失常的心房颤动患者中,其对布新洛尔的反应不佳的现象,这表明与同时发生心律失常和心律失常的患者相比,其病理生理学有所不同。这种推定的病理生理差异可能与长期AF相关的心房和心室纤维性负担增加有关及其对治疗的影响,并可以在AF和HF的动物模型中进行翻译研究。

#### [0946] 实施例7-实施例6研究的统计分析计划

##### [0947] A. 分析人群和终点随访期的定义

[0948] 疗效分析将遵循意向治疗(ITT)原则,并且将包括所有随机研究治疗的患者,而不论(1)治疗滴定过程是否成功以及(2)旨在将心房颤动(AF)转换为窦性心律(SR)的电复律(ECV)的结果如何。作为附加的敏感性分析,将在符合方案的子种群上重复主要和次要终点的测试。下面描述特定于终点的进一步灵敏度分析。安全性分析将包括接受至少一剂盲法研究治疗的所有患者。筛选的人群包括任何签署知情同意书的患者。筛选失败人群是筛选人群的一个亚群,这些人群由于某种原因没有被随机分配来研究药物。

[0949] 将定义四个随访期,以将每个患者的结果纳入终点计算中:

[0950] ● 药物滴定期:从随机治疗开始之日开始,延长至随机分配后六周。

[0951] ● 24周随访期:开始于1) 第一次建立稳定SR(在3.2.1节中定义)的ECG,或;2) 未能转化为稳定SR的患者的最后一次ECV尝试;或;3) 第0周访视,针对因任何原因未接受ECV的心房颤动患者。如果患者在第24周访视之前中止,则第24周访视或研究结束(EOS)访视当天结束。

[0952] ● 总随访期:从24周随访期的同一天开始,一直持续到EOS访视为止。

[0953] ●总研究期:从随机访视当天开始,一直持续到EOS访视为止。

[0954] B. 患者特征。

[0955] 1. 筛选失败

[0956] 筛选失败原因将按频率顺序列出。这些原因收集在eCRF DEMOG表格上。

[0957] 2. 随机化

[0958] 随机化治疗分配是集中的,并且在方案的版本1和2中按以下方式分层:1) HF病因(缺血/非缺血);2) LVEF ( $<0.35/\geq 0.35$ ) 和;3) 美敦力装置的类型(显示/非显示/无装置)。在方案版本3中,增加了第四个层次:随机化时的节奏状态:(SR与AF)。每个治疗组内按分层随机分组的患者计数将按部位和总体列出。将详细描述随机化过程。

[0959] 3. 基线特征

[0960] 将使用描述性统计数据检查治疗组在人口统计学、心血管病史、AF危险因素、当前疾病状态、HF和AF治疗、身体检查异常、CYP2D6和 $\alpha 2C$ 基因型、生命体征、ECG和实验室参数方面的可比性。将使用均值、标准误差、标准差、中位数、最小值、最大值和 $n =$ 可用结果数来分析连续变量。分类变量将以 $n =$ 可用结果数和研究人群百分比来描述,并在必要时在脚注中提供分母的确切说明。

[0961] 4. 治疗暴露与依从性

[0962] 将检查治疗组在滴定期的结果(按研究前的 $\beta$ 阻滞剂使用情况细分)、目标剂量的获得以及剂量水平和总体上的双盲治疗天数方面的可比性。在四个随访期内,治疗组所经历的天数和暴露的天数也将进行描述。

[0963] 自上次访视以来的合规性由VISREC eCRF表单上的站点报告。将为每位患者计算24周随访期和总研究期的总体依从率,并将两个治疗组之间的描述性统计进行比较。请注意,如果患者中止研究治疗,依从性是通过中断日期计算的。

[0964] 5. 伴随用药

[0965] 患者必须接受最佳抗凝治疗以预防中风。将生成按治疗组抗凝药物使用情况的列表。对于华法林使用者,INR在LAB eCRF上的收集范围如下: $<1, \geq 1$ 且 $<2, \geq 2$ 且 $<3, \geq 3$ 且 $<4, \geq 4$ 。将为需要报告的每个研究访视,按治疗组生成这些报告范围的列表。

[0966] 研究期间所有伴随用药的报告使用情况将使用WHODrug词典按照治疗组列表的首选名称和解剖学治疗学分类(ATC)进行标准化。

[0967] 6. 主要研究程序的指标

[0968] 随机治疗组将为以下研究程序和医学干预措施提供描述性统计数据:

[0969] ●随机访视和24周随访期开始时,每位患者的心律状态如下表所示。

[0970] ○不需要ECV的第0周稳定SR患者

[0971] ■随机化时SR中的患者

[0972] ■随机化时AF中的患者

[0973] ○需要ECV的第0周稳定SR患者

[0974] ■随机化时SR中的患者

[0975] ■随机化时AF中的患者

[0976] ○第0周出现AF/AFL的患者

[0977] ■随机化时SR中的患者

[0978] ■ 随机化时AF中的患者

[0979] ○ 第0周之前的死亡/失访(LTF)

[0980] ■ 随机化时SR中的患者

[0981] ■ 随机化时AF中的患者

[0982] ● ECV治疗前经过的天数。

[0983] ● ECV的结果。

[0984] ● 依从收集跨电话监视(TTM)结果的程序,并

[0985] ● 依从收集美敦力装置结果的程序。

[0986] 7. 最终研究处置

[0987] 筛选并随机分配到研究中的患者处置将按治疗组列表并用流程图显示。这将包括筛选次数、筛选失败、重新筛选、随机化、第24周访视完成、永久终止研究治疗的原因以及研究随访中止的原因(按第24周访视之前/之后细分)。请注意,所有被分类为完成第24周访视的患者将在整个24周随访期内确定主要终点和次要终点的所有组成部分。

[0988] 8. 方案偏离

[0989] ARCA Clinical Operations维护一个Excel电子表格,其中包含研究期间报告的方案偏离。根据ARCASOP Clin-005基于其对临床结果的潜在影响,将每个方案偏离分为主要方案偏离或次级方案偏离。将为两个治疗组提供报告的方案偏离的表格和列表。

[0990] C. 疗效分析

[0991] 1. 一般方法

[0992] i.) 事件发生时间分析方法

[0993] 事件发生时间的计算方法是事件发生的日期减去疗效随访的开始日期,并加上1,以包括该间隔的开始日期和结束日期。

[0994] 对于所有终点,当患者接受心脏移植手术、宣布永久失访或撤回同意时,将对随访进行检查。在终点描述中标识了后续时间和特定的检查规则。

[0995] 这些分析将使用随机处理分配层的对数秩统计量和精确方差计算,对布新洛尔和美托洛尔进行双尾比较:1) HF病因(缺血/非缺血);2) LVEF ( $<0.35/\geq 0.35$ );3) 美敦力装置的类型(显示/非显示/无装置);和4) 随机时的节奏状态:(SR与AF)。请注意,根据方案第1版和第2版招募的患者并未按节奏状态分层,但是由于入选标准(全部在AF中),他们的节律状态是已知的。将使用SAS®LIFETEST程序执行计算,其中STRATA语句中指定的分层变量和TEST语句用于指定治疗组比较器和要检查的所有协变量。考克斯的比例风险模型将用于计算估计的风险比率和95%的置信区间。将使用SAS PHREG程序执行计算,并在STRATA语句和治疗组比较器中指定分层变量,并在MODEL语句中指定检查任何协变量。对于主要终点,将通过每个治疗组进行随访的对数图(-log(生存功能))作图,探索假设成比例危险的适当性。

[0996] 在适当的情况下,将生成丁丙诺尔与美托洛尔的Kaplan-Meier生存曲线,以图形方式比较两个治疗组。

[0997] 事件到达时间终点的随访通常在第24周访视或EOS访视中结束,用于总随访期或总研究期终点。如果第24周访视的时间晚于第180天,则将在第180天检查随访情况。

[0998] ii.) 组合终点的分量

[0999] 该报告将包含许多终点,这些终点涉及首次发生多种事件的时间,例如AF/AFL发作、死亡或住院。对于这些终点,将列出每个分量提供的第一个事件的计数。此外,将按照与合并统计数据使用的相同方法,通过首次事件时间分析分别分析合并终点的每个分量。

[1000] iii.) 裁决

[1001] 临床事件分类(CEC)组将对24周随访期内的主要终点、首次症状性AF/AFL事件或死亡进行裁决。作为主要终点裁决过程的一部分,CEC还将评估首次AF/AFL事件(即症状性或非症状性)的次要终点。具体来说,将对AF/AFL首次报告的ECG进行审查并裁定是否存在AF/AFL,无论其症状状态如何。如果第一个方案定义的AF/AFL事件不被认为是症状性AF/AFL事件,则针对该患者的触发过程将继续,直到为主要终点识别出第一个症状性AF/AFL事件为止。CEC对ECG描记的过度读取将用于计算其他相关研究终点(例如24周随访期内的无症状性AF/AFL)。可以在CEC章程中找到更多详细信息。

[1002] iv.) 核心实验室和跨电话监控

[1003] 在最初的研究方案中,一个电生理核心实验室(敏捷性集中研究服务)在24周的随访期内,对在诊所站点进行的单个ECG以及患者佩戴的跨电话监护器(TTM)进行了集中ECG解释。在该方案的版本4中,这两个数据源的收集已停止。CEC裁决程序当时不在生产模式下,因此决定CEC将对站点ECG跟踪执行自己的解释(过度读取),并且不使用任何核心实验室解释。此外,CEC裁决将利用可用的TTM数据。

[1004] v.) 住院

[1005] 许多疗效终点涉及住院治疗。这些终点仅包括非自愿性的过夜入院;不包括急诊室就诊。这项研究中的患者通常会安排入院治疗其AF和/或HF。实施例包括消融手术、Tikosyn诱导、植入装置的放置/更换以及IV药物治疗。这些将不包括在终点中。eCRF专门收集研究者对住院病因的评估,其中包括对非CV、CV和HF住院的评估。除了调查者对因果关系的评估之外,申办方还将在数据库锁定之前通过盲态清单审查方式对数据进行审查,以确认哪些住院被认为是自愿的通宵入院。

[1006] vi.) 研究结束时的数据收集截止

[1007] 该方案指出,该研究将以大约620名随机患者结束,并且至少要归因于3期中期分析而不会改变样本数量和目标事件计数,才能累积至少330个主要终点事件(请参阅DSMB章)。此时,任何仍参加24周随访期的患者将继续接受盲法研究治疗,直到完成第24周就诊。延长期内的那些患者将被要求进行EOS访视。

[1008] vii.) 由于停药或失访而丢失数据

[1009] 在第24周访视之前,停药率或失访预计会很低。如果在第24周访视之前发生停药或失访,则从最后一次完成的访视起,所有事件至事件的终点都将被检查。请注意,退出研究的患者将被要求同意通过电话检查其生命状态。如果通过此程序检测到死亡,则将死亡日期合并到疗效和安全性数据集和分析中。

[1010] viii.) 中期分析的P值调整

[1011] DSMB章和DSMB SAP中提供了中期功效分析和持续安全监控的目标和操作细节。

[1012] 在阶段3结束时,主要终点的 $\alpha$ 水平将降低至0.04989,以针对阶段2B( $\alpha=0.00001$ )和阶段3( $\alpha=0.0001$ )临时分析进行调整。

[1013] 2. 疗效终点



[1014] i.) 主要疗效终点

[1015] 主要终点是24周随访期内症状性AF/AFL首次发病时间或全因死亡率(ACM)。这是在24周随访期结束时检查的事件时间终点。CEC提供对症状性AF/AFL或死亡的第一事件的识别。CEC无法区分是否存在AF或AFL,因此无法进行分量分析。

[1016] 以下定义适用于此终点:

[1017] ●研究药物的稳定SR定义为以下任意一种:

[1018] ○ ECV后,SR确认 $\geq$ 1小时。

[1019] ○从AF/AFL自发转化后,SR确认 $\geq$ 1小时。

[1020] ○随机化的SR患者在第0周访视时,SR确认 $\geq$ 1小时。

[1021] ●AF/AFL事件定义为通过ECG/TTM评估,间隔至少10分钟的两个连续测量中观察到的AF或AFL。

[1022] ●症状性AF/AFL事件被定义为与患者报告的症状的临床相关变化相关的AF/AFL事件,随着通过CEC的盲态数据检查所确定。

[1023] CEC章和相关文件描述了为确定事件以供其考虑而确定的“诱因”,以及在其裁决程序中使用的数据源。该章还描述了他们将AF事件识别为症状性事件的方法,并确定事件的开始日期和时间的方法,因为这对于事件发生时间的终点是必需的。请注意,该方案的版本3涉及对收集到的症状的全面更改,对原始8个症状中的6个进行了描述的修改,并添加了2个新症状。症状特征也通过在收集表中添加“频率”字段来阐明。所有这些更改都是为了给CEC提供更具体的信息,以支持其识别与AF发作有关的新的或恶化的症状。由于仅在将12例患者随机分配后(计划620例的2%)实施了这些更改,并且总体症状发作/恶化的确定是一项裁定决定,因此没有计划修改分析方法。

[1024] AF/AFL将通过12导联ECG在计划内和计划外的门诊访视时进行评估。每次ECG评估时都会询问患者,以确定他们是否经历了可能与AF相关的症状变化。

[1025] 在开始随机治疗后约三周,一或两次ECV程序后,绝大多数患者将处于SR或成功从AF转变为SR的状态。然而,有几种情况与该规范背道而驰,下面介绍了为主要终点建立疗效随访和检查开始的方法:

[1026] 1. 在计划的心脏复律之前自发转换为稳定的SR。对于这些患者,首次ECG评估中符合稳定SR定义(如上定义)的日期将被指定为24周随访期的第一天。

[1027] 2. 由于退出或其他原因导致未执行ECV程序,因此未能获得稳定的SR。这些患者将在24周随访期的第1天进行检查,并纳入分析。

[1028] 3. 自发或在ECV之后未能获得稳定的SR。这些患者将在24周随访期的第1天经历该事件时纳入终点计算。

[1029] 4. 在随机化后且转换为稳定SR之前发生的死亡将被视为24周随访期第1天的事件。

[1030] 5. 在第0周就诊时通过ECV以外的其他方式停止AF/AFL的患者将在24周随访期的第1天接受检查。一个例子是在第0周访视时出现AV结消融。

[1031] 还将根据病理生理或临床重要性在以下前瞻性确定的亚组内进行主要终点分析:

[1032] 1) 开始了SR与AF的24周随访期;2) 随机化LVEF分层: $\leq 0.35$ 与 $> 0.35$ ;3) 性别;4) 缺血性病因与非缺血性病因;5) 年龄中值以上/以下;6) AF诊断持续时间高于或低于中值;7) 基

线去甲肾上腺素高于或低于中值;8) 基线NT-proBNP;9)  $\alpha_{2c}$  AR多态性(即De1载体与 $\alpha_{2c}$ 野生型纯合子)。

[1033] 在探索性分析中,以下协变量将作为潜在相关的解释变量包括在Cox回归模型中:1) 初始研究治疗剂量水平;2) 基准NYHA等级;3) 性别;4) 种族;5) 年龄;6) 基线血清肌酐;7) 基线去甲肾上腺素水平;8) 基准心率;9) 基线收缩压;10) 糖尿病史;11) AF诊断的持续时间;12) 以前使用胺碘酮(既有历史记录,也有在随机化之前停止使用);13) 研究前的消融术;14) 治疗仪类型:CRT、ICD、单心室导联起搏器;15) 对于基线时处于AF的患者亚群,节律异常的类型:(阵发性AF或持续性AF);16) 对于基线时处于SR状态的患者子集:自上次获得SR以来的时间,先前的节律异常的类型以及结束先前AF发作的干预措施;17) 从随机化日期到24周随访期开始经过的治疗天数;18) CYP2D6代谢者状态;19)  $\alpha_{2c}$  AR多态性(即De1载体与 $\alpha_{2c}$ 野生型纯合子);20) 诊所所在的国家;21) 其他具有临床意义的AF危险因素。

[1034] 其他探索性分析将包括以下内容:

[1035] ●对与主要终点事件相关的症状的定性分析。症状分为与心律失常有关(心悸或头昏眼花/头晕)与HF有关(疲劳或疲倦,运动无力或问题,腿和/或双脚体重增加或肿胀)或两者兼有。

[1036] ●对于症状性AF/AFL的主要终点事件的患者,有多少由先前的无症状性AF/AF事件发展为症状性。

[1037] 将执行以下敏感性分析:

[1038] ●亚人群分析,仅包括那些开始24周SR随访期的患者。

[1039] ●在按方案分析中,永久终止研究治疗后超过30天发生的终点事件和死亡被忽略。

[1040] ●包括所有24周的访视(即-不排除第180天后第24周访视中观察到的事件)。

[1041] ●在第24周就诊之前退出的或失访的未恢复AF/AFL患者,将在第一次错过诊所访视或预定的TTM时分配一次AF/AFL事件。

[1042] ●在第24周访视之前退出或失访的患者将从分析中省略。

[1043] ii.) 次要疗效终点

[1044] 如果发现布新洛尔在主要终点显著优越于美托洛尔,将通过固定序列测试以下终点相对于美托洛尔的布新洛尔的优越性。除非另有说明,否则将使用第3.1.1节和3.2.1节中描述的涉及AF/AFL复发事件的事件发生时间终点方法:

[1045] ●在24周随访期内,AF/AFL(即症状性或无症状性)或ACM的首次发病时间。

[1046] 支持性分析:

[1047] 在总随访期发生的事件。

[1048] 对于症状性AFL事件的患者,随后发展为AF的患者比率。同样对于这些患者,从症状性AFL到AF所经历的时间。

[1049] 数据源:

[1050] ECG(CEC在前24周内通读)

[1051] TTM(仅前24周)

[1052] ●在24周随访期内,VT、VF或症状性室上性心动过速(SVT)患者的比例。包括任何持续时间的VF和症状性SVT事件、 $\geq 15$ 秒的VT事件以及导致适当触发ICD的VT事件。将使用

Cochran-Mantel-Haenszel统计进行测试,以控制四个分层变量。

[1053] 支持性分析:

[1054] 在总随访期发生的事件。

[1055] 数据源:

[1056] CVEVENT eCRF表单是这些复合终点所有分量的来源。

[1057] ●在总研究期内,每位患者的全因住院总天数。住院天数将进行标准化用于通过威尔科克森秩和统计数据检测前的随访总天数。

[1058] 支持性分析:

[1059] 每位患者的心力衰竭住院天数。

[1060] 首次复发AF/AFL的全因住院天数与复发后的天数相比,每个时期的随访天数均已标准化。比较将在治疗组内和整个治疗期间进行。

[1061] 与没有VRR控制的患者相比,有心室速率控制(VRR)对照的患者的全因住院天数。比较将在治疗组内和整个治疗期间进行。

[1062] 数据源:

[1063] HOSP eCRF表格提供了住院天数和住院原因。

[1064] 在研究结束时,将使用ECG和AE eCRF来识别具有VRR控制的AF患者。

[1065] ●在总随访期内,AF/AFL的首次发病时间(即症状性或无症状性)、HF住院(由研究者评估)或ACM。与主要终点一样,在24周随访期开始之前发生的ACM发生率将作为第1天的事件进行分析。不包括第0周之前的住院治疗,但这些都包括在安全性分析中。

[1066] 支持性分析:

[1067] -在24周随访期内累积的事件。

[1068] -每种分量的组合(即AF/AFL+ACM、AF/AFL+HFH、HFH+ACM)。

[1069] 数据源:

[1070] -ECG(CEC在前24周内通读)、HOSP和DEATH eCRF表格。

[1071] -TTM(仅前24周)。

[1072] ●在AF/AFL中具有适当心室率控制(VRR)的患者比例。AF/AFL中适当VRR的定义如下:1)存在AF或AFL;2)静止时的VRR在每分钟40至80次跳动(bpm)之间;3)没有与心动过缓有关的症状。因此,这是仅涉及AF/AFL复发患者的子集分析。在干预之前的24周随访期内评估终点的最后追踪,以显示AF/AFL(例如:消融、ECV、抗心律失常药物的启动)。将使用Cochran-Mantel-Haenszel统计进行测试,以控制四个分层变量。

[1073] 支持性分析:

[1074] -在24周随访期内,当患者仍在接受研究治疗时,评估最后一次追踪显示AF/AFL。

[1075] 数据源:

[1076] -ECG和AE eCRF表格(用于症状性心动过缓)。

[1077] iii.) 三级疗效终点

[1078] 将测试以下终点相对于美托洛尔而言布辛多洛益处的优越性。除非另有说明,否则将使用第3.1.1节和3.2.1节中描述的涉及AF/AFL复发事件的事件发生时间终点方法:

[1079] ●在全随访期内首次发生VT/VF或ACM的时间。包括任何持续时间的VF事件、≥15秒的VT事件以及导致适当触发ICD的VT事件。

- [1080] 支持性分析：
- [1081] 在24周随访期内累积的事件。
- [1082] 数据源：
- [1083] -CVEVENT和DEATH eCRF表格。
- [1084] ●在总研究随访期内,AF/AFL的首次发病时间(即症状性或无症状性)、与CV相关的住院(由研究者评估)或ACM。
- [1085] 支持性分析：
- [1086] -在24周随访期内累积的事件。
- [1087] -每种分量的组合(即AF/AFL+ACM、AF/AFL+CVH、CVH+ACM)。
- [1088] 数据源：
- [1089] -ECG(24周随访期内CEC通读)、HOSP和DEATH eCRF表格。
- [1090] -TTM(24周随访期)。
- [1091] ●在总随访期内中风或全身性栓塞患者的比例。中风定义为持续至少24小时(由研究者评估)的非创伤性缺血、出血或不确定原因引起的局灶性神经功能缺损。使用Cochran-Mantel-Haenszel统计进行测试,以控制四个分层变量。
- [1092] 数据源：
- [1093] -CVEVENT eCRF表格。
- [1094] ●随机化的AF/AFL患者中,转换为稳定SR(自发性或ECV后)并进入24周随访期的患者比例。使用Cochran-Mantel-Haenszel统计进行测试,以控制四个分层变量。
- [1095] 支持性分析：
- [1096] 自发转换的患者亚群。
- [1097] 数据源：
- [1098] FUSTART eCRF表格。
- [1099] ●在总研究期内,每位患者的ECV程序总数。该总数将进行标准化用于通过威尔科克森秩和统计数据检测前的随访总天数。
- [1100] 数据源：
- [1101] ECV eCRF表格。
- [1102] ●在第24周访视时正在接受研究药物且未发生AF/AFL事件的患者比例。使用Cochran-Mantel-Haenszel统计进行测试,以控制四个分层变量。
- [1103] 数据源：
- [1104] ECG(CEC通读)、DRUGLOG和EOT eCRF表格。
- [1105] TTM(24周随访期)。
- [1106] ●NT-proBNP的变化,相对于基线进行评估(随机访视)。使用威尔科克森秩和检验的布新洛尔治疗组在基线基础上的变化将得到更大的降低,因为预期该测量方法缺乏正常性。
- [1107] 数据源：
- [1108] LabCorp供应商数据集。
- [1109] ●去甲肾上腺素的变化,相对于基线进行评估(随机访视)。使用威尔科克森秩和检验的布新洛尔治疗组在基线基础上的变化将得到更大的降低,因为预期该测量方法缺乏

正常性。

[1110] 数据源：

[1111] LabCorp供应商数据集。

[1112] ●EQ-5D调查表具有5个维度(活动性,自我护理,日常活动,疼痛/不适和焦虑/抑郁),并且由患者自我评估为没有问题、有些问题或严重问题。每个维度的结果将在两个时间点分别进行分析。从随机化到每次访视的变化将被归类为改善或无变化/恶化,并且在两个治疗组中这些类别的比例将以 $2 \times 2$ 表格制表。将使用Cochran-Mantel-Haenszel统计来控制四个分层变量,以测试布新洛尔治疗组的优异反应。

[1113] 数据源：

[1114] EQ-5D eCRF表格。

[1115] ●医疗保健利用的药物经济学模型。此分析的详细信息将在单独的分析计划中预先指定。

[1116] D. 安全性分析

[1117] 建立了以下四个时期来分析安全性终点：

[1118] ●24周药物使用期：从随机化当天开始,一直延伸到第24周访视的最新访视。对于早期中止治疗的患者,包括研究治疗的最终剂量后30天内收集的数据。

[1119] ●24周药物研究期：从随机化当天开始,一直延伸到第24周访视的最新访视。对于在第24周之前中断研究的患者,包括最后一次研究访问后30天收集的数据。研究治疗状态不考虑纳入数据。

[1120] ●总研究药物使用期：从随机化当天开始,持续到研究治疗的最终剂量后的30天。

[1121] ●总研究期：从随机化当天开始,一直持续到最后一次门诊访视后的30天。研究治疗状态不考虑纳入数据。

[1122] 将在所有四个时间范围内对SAE进行分析。对于其他安全性终点,将使用24周研究期和总研究期。如果在终点观察到治疗组失衡,将与其他数据纳入时间表一起进行进一步分析。

[1123] 以下安全性终点的结果将与接受研究治疗的所有患者在治疗组之间的描述性统计进行比较。从研究药物的第一剂到最后一剂后30天收集的结果将包括在安全性评估中。如果在规定的访视研究日的 $\pm 7$ 天之内收集了特定于计划访视的结果,则这些结果将包括在访视分析中。

[1124] ●在总研究期内ACM的发生率。

[1125] 支持性分析：

[1126] 将使用每位患者可用的最终心率测量来检查VRR控制与死亡率之间的关系(比较将在治疗组内进行)。

[1127] 数据源：

[1128] DEATH eCRF表格。

[1129] ●在药物滴定期内,ACM的发生率、与CV相关的住院治疗(由研究者评估)或因AE而对研究药物停药。

[1130] 数据源：

[1131] DEATH、HOSP、EOS和AE eCRF表格。

[1132] ●在总研究期内,症状性心脏传导阻滞的发生率。症状性心脏传导阻滞定义为以下任何一项中的第一个:1) 三级心脏传导阻滞(完全性心脏传导阻滞);2) 任何出现并归因于并在时间上与心脏传导阻滞相关的症状的二级心脏传导阻滞,包括以下任何一项:接近晕厥或晕厥(昏厥)/头晕;虚弱或疲劳;呼吸急促;胸痛;或3) 需要植入永久性起搏器(带或不带除颤器)的二级或三级心脏传导阻滞。

[1133] 数据源:

[1134] CVEVENT和AE eCRF表格。

[1135] ●在总研究期内,随时间推移治疗诱发的AE/SAE的总发病率和严重程度。还有与装置植入相关的事件。这些事件将具有标准化的MedDRA首选术语和分配给它们的系统器官分类用于制表。

[1136] 支持性分析:

[1137] 导致减少、中断或永久终止研究治疗的AE发生率。

[1138] 与装置植入相关的AE发生率。

[1139] 通过CYP2D6代谢者状态引起的AE发生率。

[1140]  $\alpha$ 2CAR多态性引起的AE发生率。

[1141] 数据源:

[1142] AE eCRF表格。

[1143] ●在总研究期内与肿瘤相关的AE发生率。将根据以下特征将特别关注的AE制成表格。

[1144] 治疗诱发的肿瘤情况的发展。

[1145] 研究前肿瘤情况的进展或恶化。

[1146] 治疗诱发的肿瘤情况的进展或恶化。

[1147] 数据源:

[1148] -AE、NEOPLHX和NEOPLAS eCRF表格。

[1149] ●临床化学和血液学。

[1150] 访视收集:筛选,随访的开始第0周(方案版本1和2),第4周(方案版本3和4),第12周(方案版本3和4),第24周,在延长期、治疗结束和研究结束期间每24周一次。筛选结果将作为治疗前的基线。

[1151] 从基线到收集的每个计划的研究访视的变化将通过描述性统计进行计算和分析。

[1152] 值超过正常范围的患者的人数和百分比将以表格形式列出以便安排访视。

[1153] 每次访视的值超过恐慌界限的患者人数和百分比。

[1154] 数据源:

[1155] LabCorp供应商提供的数据集。

[1156] ●ECG定量参数。

[1157] 在每次访视时进行测量。首次给药前的随机化访视测量将作为基线。将在第0周、4周、12周和24周访视以及治疗结束和研究结束时进行分析。

[1158] 从基线到每次分析访视的变化将通过描述性统计进行计算和分析。

[1159] 在研究过程中的任何时间点,QTc从基线增加到超过60ms的患者数量和百分比。

[1160] 数据源:



- [1161] -ECG eCRF表格。
- [1162] ●生命体征和体重(数据来源:VITALS eCRF表格)。
- [1163] 在每次门诊访视时进行测量。首次给药前的随机化访视测量将作为基线。将在第0周、4周、12周和24周访视以及治疗结束和研究结束时进行分析。
- [1164] 从基线到每次分析访视的变化将通过描述性统计进行计算和分析。
- [1165] 数据源:
- [1166] VITALS eCRF表格。
- [1167] ●在药物滴定期内达到目标研究药物剂量的患者比例。将为所有患者(在随机化之前接受 $\beta$ -阻滞剂治疗的患者和之前未接受 $\beta$ -阻滞剂治疗的患者)进行计算。
- [1168] 数据源:
- [1169] VISREC和DRUGLOG eCRF表格。
- [1170] E. 关注和亚研究的计量
- [1171] 1. AF负担 (AFB) 亚研究。
- [1172] 在这个任选的亚研究中,AFB定义为患者每天处于AF/AFL的时间,通过植入的美敦力(Medtronic)装置进行测量,包括心脏监护仪、起搏器、心脏复律除颤器和心脏再同步治疗。这些装置还在AF期间测量VRR。预计约有50%的研究参与者会参加AFB亚研究。
- [1173] 装置类型的分布将按治疗组、患者基线特征、疾病严重程度、装置植入前的治疗暴露以及24周随访期开始的经过天数来确定。对于每位患者,AFB将在图形显示中以小时/天呈现,并标明随机化和初始ECV的日期以及其他干预措施。
- [1174] 治疗功效终点将是发生首次装置检测到的事件或ACM的时间,事件定义为一天中至少6个小时的AFB。该终点将通过第24周的访视使用与研究主要终点相同的方法进行分析。在24周随访期开始后仍无可用AFB数据的患者将被排除在外。具有植入式治疗装置的患者会产生节奏性节律,使AFB的测量结果混乱,因此也将被排除在外。
- [1175] 2. 支持性分析
- [1176] 在整个随访期内装置检测到的AF/AFL事件的时间。
- [1177] 在24周随访期内,最后一天表现出AF/AFL的VRR患者比例。将使用Cochran-Mantel-Haenszel统计进行测试,以控制四个分层变量。
- [1178] AFB中随访天数的百分比,计算公式为:AFB至少为6小时的天数除以24周随访期内的总天数。将使用威尔科克森秩和统计进行统计检验。将对开始24周SR随访期的患者亚组进行敏感性分析。
- [1179] 3. 数据源
- [1180] i.)美敦力供应商提供的数据集
- [1181] DNA标本库在筛选时会收集用于同意参加该亚研究的患者。对这些数据的分析没有预先计划。
- [1182] 盐酸布新洛尔血浆浓度的稀疏采样,用于人群药代动力学分析。在揭盲之前,将单独准备亚研究的分析计划。
- [1183] F. GENETIC-AF临床试验。2B期统计分析计划修订
- [1184] 1. 2B期统计分析计划的基本原理
- [1185] 在2017年8月7日对GENETIC-AF试验进行的预先指定的第一次中期分析中,根据预

先定义的“修改后的主要终点”数据的贝叶斯成功预测概率(PPoS)模型的应用,GENETIC-AF数据和安监委员会(DSMB)建议在2B阶段完成试验,而不是立即徒劳无益或“无缝”过渡到3阶段。此后不久,申办方将DSMB决定告知了试验研究者,并指示研究中心在2017年12月31日之前完成所有随机患者的随访。这意味着267名患者将构成最终的2B期人群,几乎所有患者都完成了计划的24周随访或达到症状性或无症状性心房颤动/心房扑动(AF/AFL)或全因死亡率(ACM)的2B期修改的主要终点(以下称为2B期主要终点)。

[1186] DSMB 2B期中期分析已于2017年8月7日进行并报告给申办方,该分析基于2017年6月19日之前随机化的215名患者的103次AF/AFL/ACM事件,包括162位获得了充分随访或经历2B期主要终点的患者。相反,在267位患者上完成的2B期数据集将可能包含大约50%的2B期主要终点事件。目前,患者正在接受最后的研究访视,并且在每个研究中心关闭过程中,所有数据都将接受全面监控的质量检查。ARCA预计将于2018年2月收到最终数据和治疗任务。

[1187] GENETIC-AF统计分析计划(SAP)1主要侧重于与3期人群相关的分析,于2017年3月15日完成,并于2017年3月30日提交给FDA。在3期SAP中,主要疗效终点是出现症状性AF/AFL或ACM的时间,该时间基于对大约620名患者的330例事件的预期而得出。由于这项研究目前已停止在2B期,ARCA估计事件总数将不到整个3期研究计划的一半。因此,SAP中描述的针对3期主要终点的预定分析预期无法为申办方提供足够的指导,以帮助其根据到达AF/AFL/ACM主要终点的时间进行合理规模的3期试验。

[1188] DSMB第2章于2015年10月13日获得批准,并于2015年10月16日提交给FDA。在该章中,DSMB承认传统的首次AF/AFL/ACM事件发生时间分析对200名至250名患者的统计功效非常低;因此,DSMB章和随附的白皮书3概述了贝叶斯方法进行的中期分析,该方法将为2B期人群提供更多信息。更具体地,DSMB章将发生症状性或无症状性AF/AFL或ACM首次事件的时间确定为2B期中期分析的主要疗效终点,因为预计此更具包容性的终点比3期主要终点(即,症状性AF/AFL或ACM)发生的事件要多得多。ARCA正在进行的对盲态数据的审查支持了这一结论,大约有75%的首次AF/AFL事件被判定为症状性,而25%的事件被判定为无症状性。

[1189] 因此,申办方计划按照DSMB章中针对2B期中期分析预先指定的贝叶斯方法,以类似方式进行此2B期研究的主要疗效分析。如下所述,这些分析将为2B期数据建模,以生成针对620位随机患者的330项事件(即症状性或无症状性AF/AFL或ACM)进行的离散3期试验的贝叶斯成功预测概率(PPoS)值。还将为3期计划目的执行其他贝叶斯建模,但这些分析将是上述2B阶段主要疗效分析的第二项。ARCA还将执行GENETIC-AF SAP中描述的所有分析,并认识到大多数这些终点(例如,症状性AF/AFL、住院、死亡率)在本质上将大大不足,并且主要是假设产生的。

[1190] 2.2B期统计分析的描述

[1191] 如DSMB第2章所述,AF/AFL或ACM终点首次发生事件的时间将由贝叶斯模型进行建模,以推导由得克萨斯州奥斯汀的Berry顾问(项目负责人Ben Saville博士)估算的PPoS。图2中给出了与第一次临时分析中所述相同的PPoS指标和界限,将用于通知/指导申办方。主要疗效分析将基于2B期数据的贝叶斯模型,假设3期离散人群的620名患者发生330例事件(即症状性或无症状性AF/AFL或ACM)。

[1192] 也将基于2B期数据的贝叶斯模型进行二级分析,假设3期离散人群的820名患者发生440例事件(即症状性或无症状性AF/AFL或ACM)。该二级分析反映了ARCA认为是3期临床试验的临床可行性的近似上限,如果DSMB第2章中所述的第二次(3期)中期分析表明数据在“有希望的区域”4中,则是当前研究计划的最终样本数量。

[1193] 如GENETIC-AF SAP1的第3.2.1节所述,将针对开始进行窦性心律的24周随访期的患者亚组,对上述主要模型和次要模型进行敏感性分析。必要时,还可以使用其他样本舒朗和事件发生率来执行其他探索性分析。

[1194] 对于症状性AF/AFL或ACM终点,也将重复上述所有分析;然而,由于此终点的事件明显较少,因此这些分析被认为是探索性的,并且图2中的PPoS界限不直接适用。

[1195] 为了确定修改纳入/排除标准是否可以改善未来的3期临床试验的设计,将按照上述主要模型(即620名患者/330例事件)和次要模型(即820个患者/440例事件)进行探索性贝叶斯分析,以探索各个亚组的治疗效果。

[1196] 1)关注的亚组在GENETIC-AF SAP<sup>1</sup>的3.2.1节中已指定。对于2B期分析,根据病理生理和/或临床相关性,按重要性顺序对以下亚组进行了优先排序:

[1197] a) 窦性心律与AF/AFL的随机化

[1198] b) LVEF随机化:  $\leq 0.35$ 与 $> 0.35$

[1199] c) 持续性AF与阵发性AF的病史

[1200] d) 地理区域(美国、加拿大或欧洲)

[1201] 由于与亚组分析夸大的假阳性率相关的众所周知的问题,这些分析将专注于估计而不是假设检验,并将结合贝叶斯分层方法将亚组中的估计治疗效果缩小到总研究人群中的相应估计。由AF和心力衰竭专家组成的GENETIC-AF指导委员会将审查亚组分析,并确定是否存在足够的生物学或临床合理性来支持任何亚组的进一步发展。

[1202] 3. LVEF对心力衰竭的分类。

[1203] 基于正常下限0.50(104,105)的左心室射血分数降低的心力衰竭的定义用于定义HFrEF(LVEF $< 0.50$ 和HF病史)。根据Ponikowski等人将HFrEF患者细分为HFmrEF(HF伴中程LVEF)为LVEF $\geq 0.40$ 且 $< 0.50$ 的HF(3)和HFmrEF(HF伴“低程”LVEFs $< 0.40$ )。

[1204] 4. 治疗性表型的变量建模和最佳界限的选择

[1205] 在这项具有有限样本数量和统计能力的探索性2期试验中,采用了精确的治疗表型,以根据基因定位确定对两种 $\beta$ 阻滞剂有不同反应的HF人群。该方法通过评估候选变量整个连续范围内的趋势的单调性和一致性,规避了与常规子集分析相关的潜在问题。从连续变量得出这些治疗表型特征的好处是分类器易于进行数值校准。对于离散的和/或分类的分类器,假设的预测变量是正确的还是错误的,等级有限或没有等级可能作为对付虚假的对冲。为了校准连续变量DxT和DTRI,可以选择更多限制性标准,例如DxT10/DTRI-1(即,AF和HF $< 10$ 年,AF在HF之前不超过1年),与DxT12/DTRI-2(HR=0.54;95%CI:0.33,0.87)相比,得出相似的治疗效果估计值(HR=0.51;95%CI:0.30,0.85);而更具包容性的标准(例如DxT15/DTRI-3)只会导致信号的轻微损失(HR=0.63;95%CI:0.40,0.98)。建议增加表型选择标准的容许变异极限(即耐受性)会增加这些结果在未来研究中可重复性的可能性。

[1206] 实施例8-精密AF 3期试验

[1207] 本实施例描述了建议的3期试验。

## [1208] A. 研究概述

[1209] 基本原理：目前批准用于治疗心房颤动(AF)和心房扑动(AFL)的大多数抗心律失常药物均被禁忌使用或有警告标签用于心力衰竭(HF)的患者，因为该患者人群的死亡风险增加，因此左室射血分数(LVEF)降低。

[1210] 盐酸布新洛尔(bucindolol)是一种具有选择性血管舒张特性的非选择性 $\beta$ -肾上腺素受体(AR)阻断剂，此前曾在BEST 3期HF试验中进行过研究。在BEST试验的一个大型药物基因组亚研究中，显示布新洛尔与AR多态性相互作用，以靶向这些变体的特定基因型可以改善治疗指数。具体地，通过HF临床结果和新发AF的减少评估，与ADRB1 389Gly纯合或杂合基因型(即ADRB1389Gly携带者)的患者相比，具有 $\beta$ 1-AR389精氨酸纯合基因型的HF患者对布新洛尔的治疗反应更有效。这些药理学作用被认为是由于布新洛尔的两种独特药理特性，即交感神经作用(即降低血浆去甲肾上腺素)和 $\beta$ 1-AR反向激动作用(即抑制组成型活性受体)。

[1211] GENETIC-AF是一项在美国、加拿大和欧洲进行的2B期试验，比较了布新洛尔和琥珀酸美托洛尔(Toprol-XL)用于预防具有ADRB1 Arg389Arg基因型的HF患者的复发性AF/AFL或ACM。该试验对中程LVEF( $\geq 0.40$ 且 $< 0.50$ ，“HFmrEF”)的HF患者和低程LVEF( $< 0.40$ ，“HF1rEF”)的HF患者进行了随机化。基于间歇性ECG监测，在主要终点的总体人群(N=267; HR=1.01; 95%CI:0.71、1.42)中观察到了相似的结果，但是在美国亚组(N=127; HR=0.70; 95%CI:0.41、1.19)的预先指定分析中观察到了布新洛尔的趋势。在一项使用植入式装置进行连续心律监测的患者亚研究中，根据每天 $\geq 6$ 小时的检测到的装置AF负担，在总亚研究人群(N=69; HR=0.75; 95% CI:0.43、1.32)和美国亚研究人群(N=42; HR=0.50; 95% CI:0.17、1.42)中，观察到布新洛尔获益的趋势在第一个AF/AFL事件终点的前瞻性定义时间内。在对GENETIC-AF主要终点的事后分析中，排除了长期存在AF或HF $\geq 12$ 岁的患者，观察到了布新洛尔的强劲趋势(N=230; HR=0.68; 95%CI:0.45、1.02)，当该人群仅限于发生HF之前2年内没有AF的患者时，具有统计学意义(N=196; HR=0.54; 95%CI:0.33、0.87; p=0.011)。在该人群中，与HFmrEF人群(N=91; HR=0.42; 95%CI:0.21、0.86; p=0.017)中的美托洛尔相比，布新洛尔的主要终点值也显著降低；而在HF1rEF人群(N=105; HR=0.69; 95%CI:0.33、1.43)中观察到非显著趋势。

[1212] 琥珀酸美托洛尔(Toprol-XL)是该试验的有效比较剂。琥珀酸美托洛尔是一种 $\beta$ 1-AR选择性 $\beta$ 阻滞剂，已获FDA批准用于治疗缺血性或非缺血性源性稳定有症状性(NYHA II类或III类)HF。琥珀酸美托洛尔已被证明在预防射血分数(HFrEF)降低的HF患者中新发AF的疗效较轻，在这种情况下通常不加标签使用(根据ACC/AHA/ESC联合指南，IIa类适应症具有AF预防证据的“C”级证据)。在先前的研究中，与安慰剂相比，琥珀酸美托洛尔降低了最近经历了电复律(ECV)到窦性心律(SR)的AF患者的AF复发率。与布新洛尔相比，琥珀酸美托洛尔似乎没有赋予ADRB1 Arg389Arg基因型的HFrEF患者更多的临床益处。此外，来自MERIT-HF DNA亚研究的有限数据并未显示出任何证据表明ADRB1 Arg389Gly多态性可以预防AF。最后，琥珀酸美托洛尔不降低去甲肾上腺素，也不是 $\beta$ 1-AR反向激动剂。

[1213] 目的这项研究的主要目的是在基因型定义的ADRB1 Arg389Arg HFmrEF人群中，比较布新洛尔和琥珀酸美托洛尔对AF事件的影响。

[1214] 这项研究的次要目标是比较参与持续监测器(CM)亚研究的亚组患者中布新洛尔

和美托洛尔对患者报告的症状和HF临床结果以及AF负担和心室反应率(VRR)的影响。也将评估布新洛尔和美托洛尔的安全性和耐受性。

[1215] 设计:PRECISION-AF是一项双盲、两臂、基因型导向、主动控制的优越性研究,在基因型定义的具有AF复发风险的ADRB1 Arg389Arg HFmrEF人群中,比较了布新洛尔和琥珀酸美托洛尔对首次AF事件发生时间的影响。

[1216] 患者必须在过去12年内有初步的HF诊断记录,在过去12个月中最新评估的LVEF $\geq$ 0.40并且 $<$ 0.50,并且没有 $\beta$ 阻滞剂的禁忌证。患者必须在过去的12年内记录初次AF诊断,并且初次AF诊断的日期不能早于初次HF诊断的日期超过2年。患者必须具有持续性或阵发性AF的当前或近期病史,并且如果不在SR中,则临床上应指示ECV。筛选时将对ADRB1 Arg389Gly的患者进行基因分型,ADRB1 Arg389Arg的患者(约50%的患者)将有资格参加该试验。

[1217] 参加该试验的一部分患者将被连续监测其心律,以评估AF负担(afb)。afb监测将通过美敦力插入式心脏监护仪(ICM)或其他可以测量afb的美敦力装置进行。同意插入美敦力装置进行试验的患者可以在随机访视时或在26周随访期开始之前的任何时间插入。

[1218] 符合条件的患者将被随机分配(1:1)接受布新洛尔或美托洛尔(即研究药物)的盲法治疗,每周调高剂量至每天200mg的布新洛尔(100mg BID)或美托洛尔(200mg QD)。随机化将通过以下方式集中和分层:1)随机化时的节奏(SR与AF);2)以前使用过III类抗心律失常药物(是与否);3)先前的消融(是与否);4)植入装置(是与否)。

[1219] 在4周药物导入期之后处于SR的患者将在第0周访视时开始26周的随访期。药物导入期为4周后处于AF状态的患者将在第0周访视时接受ECV,以在26周的随访期开始之前确定研究药物的SR。如果研究者认为,需要额外的时间来获得适当剂量的研究药物或调整ECV之前的抗凝状态,则首次ECV尝试可在随机化后的8周内进行。不建议在为期4周的药物导入期完成之前执行ECV程序,并且需要申办方或其指定人预先批准。

[1220] 在研究药物确定SR后的26周随访期内,将评估主要终点(即首次发生AF/AFL事件的时间)。对于需要ECV的患者,将在ECV至少30分钟后通过心电图(ECG)确认研究药物上的SR确立。在首次ECV程序后未表现出SR的患者将在开始进行有效性随访之前的两周内尝试进行第二次ECV程序,除非研究者认为这不是对患者的最佳治疗方案。对于为期26周的随访期,对于在开始随访前未能转换为研究药物的患者,将在确定研究药物SR的ECG当天或最后一次ECV程序的那天开始。

[1221] 在26周随访期内,每次门诊访视时将通过12导联ECG评估心律。在每次ECG评估时,将询问患者是否存在与AF/AFL相关的症状。在26周随访期内,将在所有计划外的门诊访视时询问患者可能与AF/AFL相关的症状,如果报告有新的或恶化的症状,则必须收集12导联的ECG。鼓励发生AF/AFL事件的患者继续使用盲法研究药物,并可能接受临床指示的后续程序或医学干预。

[1222] 在第26周访视后,患者将进入治疗延长期并继续接受双盲研究药物。随访将继续进行,直到至少有400名患者被随机分组,并在26周随访期内观察到235个主要终点事件。此时,所有患者将完成26周随访期,或者如果已经在治疗延长期内,则返回诊所进行研究访视。研究结束时,根据研究者的判断,患者将停止研究药物的使用,并过渡到商业上可用的 $\beta$ 阻滞剂治疗。从研究药物转用时,不会告知研究者和患者治疗分配。

[1223] 该试验采用了一种临时分析/自适应设计方法,该方法将检查来自初始人群(N=250)的初步结果以及主要终点的可评估数据。中期疗效分析具有三个潜在结果:1)无效而提前终止试验;2)按计划的400名患者的样本数量完成试验,或者;3)如果条件能力计算在有希望的区域范围内,则完成扩大样本数量为550例的试验。

[1224] 患者人数:该试验旨在对约400名患者进行随机分组,如果根据临时分析中的“有希望的区域”条件能力计算所决定,则可能增加至550名患者。预计约有50%的筛选患者具有ADRB1 Arg389Arg基因型,并假设该研究筛选失败率为65%(一般标准为15%,由于基因型筛选失败率为50%)。因此,估计将筛选约1150名患者,以随机化400名患者。

[1225] 中心数:这项全球研究将包括大约100个中心。对于计划的400名患者的样本数量,每个中心最多允许40名随机患者(即总入组人数的10%)。

[1226] 治疗时间:患者将有资格接受研究药物至少30周,并且将继续接受研究药物,直到至少有400名患者被随机分组并且在26周随访期内(目前估计从首次患者随机分组起需要3.5年)观察到235个主要终点事件。

[1227] 入选标准:患者必须符合以下所有入选标准,才有资格在本研究中进行随机分组。

[1228] 1. 筛选时年龄 $\geq 18$ 岁且 $\leq 85$ 岁。

[1229] 2. 随机访视时体重 $\geq 40$ kg。

[1230] 3. 拥有ADRB1 Arg389Arg基因型。

[1231] 4. 筛选访视前12年以内有初步诊断的HF病史。

[1232] 5. 筛选访视前少于12年的历史记录:

[1233] a. HF症状(例如呼吸困难、易疲劳、阵发性夜间呼吸困难、正呼吸)和/或HF症状(例如容量超负荷的证据)

[1234] b. 至少以下之一:

[1235] i. BNP $\geq 100$ pg/ml

[1236] ii. NT-proBNP $\geq 125$ pg/ml(年龄 $\leq 75$ 岁)或 $\geq 400$ pg/ml(年龄 $> 75$ 岁)。

[1237] iii. HF住院。

[1238] 6. 筛选访视前12个月内,最近一次评估的LVEF $\geq 0.40$ 且 $< 0.50$ 。

[1239] a. LVEF $\geq 0.45$ 时评估时的心率 $< 120$ bpm,如果在AF/AFL中评估,则 $< 0.50$ 。

[1240] 7. 筛选访视前12年以内有初步诊断的AF病史。

[1241] 8. 筛选访视中至少有症状性阵发性或持续性AF发作 $\leq 120$ 天。

[1242] a. 由ECG、Holter、TTM、ECG机或植入装置记录的合格AF事件。植入装置的记录要求单次发作持续时间 $\geq 60$ 分钟。

[1243] b. 研究者认为,必须经历与合格AF事件相关的新的或恶化的症状。

[1244] c. 没有AF的心房扑动不是合格的AF发作。

[1245] 9. 临床上适用于ECV,如果在第0周访视时未进行SR,则愿意接受ECV。

[1246] 10. 接受指南指出,除非有禁忌症,否则在研究者看来,随机访视时和整个研究中,口服抗凝治疗被认为是预防卒中的最佳方法。

[1247] 11. 随机访视时收缩压 $> 90$ mmHg且 $< 150$ mmHg。

[1248] 12. 具有生育能力的女性在筛选时血清妊娠试验必须为阴性,在随机分组时尿液妊娠试验必须为阴性,并且必须同意在试验期间和最后一剂研究药物使用后至少30天使用



有效的避孕方法。

[1249] a. 手术不育或绝经后至少12个月的女性不被认为具有生育能力。

[1250] 13. 必须同意在整个研究期间不参与涉及另一种研究药物或装置的临床研究。

[1251] a. 非实验性注册表的例外, 允许参与随机试验。

[1252] 14. 必须有理解机构审查委员会 (IRB) 或独立道德委员会 (IEC) 批准的知情同意书 (ICF) 中提供的信息。必须在开始任何研究程序之前在 ICF 上签名, 并且在随机访视之前不得撤回同意。

[1253] 排除标准: 符合以下任何排除标准的患者不符合本研究的随机分组条件。

[1254] 1. 随机访视时出现 NYHA IV 级症状。

[1255] 2. 研究者认为, 在随机访视中存在明显的液体超负荷。

[1256] 大量液体超负荷的证据可能包括:

[1257] a. 锁骨上方的平均颈静脉压力为  $90^{\circ}$ 。

[1258] b. 肝充血。

[1259] c. 咳嗽后湿性肺部罗音。

[1260] d. 1+ 踏板外周水肿不能由局部因素解释。

[1261] 3. 首次 AF 诊断 > 首次 HF 诊断之前 > 2 年 (730 天)。

[1262] 4. 筛选访视中的永久性 AF。

[1263] a. 永久性 AF 的定义是持续性 AF 事件, 持续时间为 1 年或更长时间, 无介入性 SR 证据, 无意进行节律控制干预。

[1264] 5. 超过两次随机访视  $\leq$  6 个月的 ECV 程序, 或者如果最近一次随机访视  $\leq$  6 个月的 ECV 未能产生 SR。

[1265] 6. 随机访视  $\leq$  30 天的 AF 或 AFL 消融史。

[1266] 7. 在随机访视中使用以下任何一项:

[1267] a. 胺碘酮、二吡酰胺、多非利特、决奈达隆、氟卡尼、普罗帕酮、索他洛尔、

[1268] 非二氢吡啶类钙离子通道阻滞剂, 每日 NSAIDs (例如布洛芬、塞来昔布)、噻唑烷二酮类药物或频繁使用短效硝酸甘油 (例如, 每周舌下含 6 片以上)。

[1269] 8. 对于在筛选期间未接受  $\beta$  阻滞剂治疗的患者, 在随机访视中使用细胞色素 P450 CYP2D6 的强抑制剂 (例如氟西汀、帕罗西汀、普罗帕酮、奎尼丁或利托那韦)。

[1270] 9. 随机访视  $\leq$  90 天时, 对室性心动过速 (VT) 或室颤 (VF) 适当触发 ICD 装置的证据。

[1271] a. 例外: 不包括抗心动过速起搏。

[1272] 10. 成功的房室结消融史。

[1273] 11. 未经治疗的二度莫氏 (Mobitz) II 或三度心脏传导阻滞的病史。

[1274] 12. 研究者认为, 未治疗的症状性心动过缓史或全剂量研究药物中可能出现症状性心动过缓。

[1275] 13. 对于在筛选期间未接受  $\beta$  阻滞剂治疗的患者, 随机访视时的心率  $< 60$  次/分钟。

[1276] 14. 对  $\beta$  阻滞剂有禁忌症或对小剂量  $\beta$  阻滞剂不耐受的病史 (例如 25mg QD 美托洛尔或同等剂量)。

[1277] 15. 心肌梗塞、不稳定型心绞痛、急性冠状动脉综合征心脏手术 (包括 PTCA 或支架置入) 或新的缺血性改变的证据, 通过随机访视的 ECG  $\leq$  90 天进行评估。

- [1278] 16. 肺动脉高压的病史, 定义为静止时的收缩期肺动脉压 $\geq 70$ mmHg, 通过超声心动图或右心导管检查评估。
- [1279] 17. AF的已知可逆原因, 例如酒精中毒、肺栓塞、甲状腺功能亢进、急性心包炎或低氧血症。
- [1280] 18. 研究者认为, 在随机访视时未治疗的甲状腺疾病。
- [1281] 19. 筛选时血清钾 $< 3.5$ mmol/L。
- [1282] a. 在筛选访视中由中心实验室评估。如中心实验室或地方实验室所记录, 任何排除结果必须在随机化之前进行校正。
- [1283] 20. 肾衰竭需要透析, 筛选时血清肌酐 $> 2.5$ mg/dL或估计的肌酐清除率 $< 30$ mL/min (Cockcroft-Gault)。
- [1284] a. 在筛选访视中由中心实验室评估。如中心实验室或地方实验室所记录, 任何排除结果必须在随机化之前进行校正。
- [1285] 21. 筛选访视时发现重大内在肝病或总胆红素 $> 2.5$ mg/dL。
- [1286] a. 在筛选访视中由中心实验室评估。如中心实验室或地方实验室所记录, 任何排除结果必须在随机化之前进行校正。
- [1287] 22. 在筛选访视后的30天内 (或研究药物的5个半衰期, 以较长者为准) 参加临床研究或使用研究药物或装置进行治疗。
- [1288] a. 非实验性注册表的例外, 允许参与随机试验。
- [1289] 23. 研究者认为, 可能将预期寿命限制在一年以下的合并症或疾病。
- [1290] 24. 严重或活跃的医学或精神疾病, 研究者认为可能会影响治疗、评估或协议的遵守。
- [1291] 25. 治疗恶性肿瘤2年内的筛选, 存在疾病进展证据的已治疗恶性肿瘤或预期在研究期间需要放疗、化疗、激素治疗或外科手术的恶性肿瘤。
- [1292] a. 局部可切除皮肤癌、子宫颈原位癌和低度前列腺癌除外。
- [1293] 26. 研究者认为, 酒精、毒品或化学药品滥用史可能会损害或限制患者对这项研究的充分参与。
- [1294] 随机治疗:
- [1295] ● 随机未接受 $\beta$ 阻滞剂治疗的患者将以每天25mg的布新洛尔 (12.5mg BID) 或Toprol-XL (25mg QD) 起始研究药物, 并以盲法将其调高至目标剂量。研究药物将每天给药两次以维持盲态。
- [1296] ● 筛选期间接受 $\beta$ 阻滞剂治疗的患者将在随机分配时中断治疗, 以相当于商业剂量50%的日剂量开始研究药物, 并以盲法将其滴定至目标剂量。
- [1297] ● 除非有临床禁忌证, 否则应将所有患者的研究药物调高至目标剂量。研究药物的目标剂量为每天200mg布新洛尔或Toprol-XL
- [1298] ● 研究者应尽一切合理的努力在每周的时间表上调高研究药物的剂量, 但如果临床需要, 则可以延迟调高剂量的药物 (例如, 每两周间隔一次的剂量增加)。少于1周的调高剂量间隔需要申办方或其指定人的事先批准。
- [1299] ● 在26周随访期开始后, 研究药物可能会继续调高剂量。
- [1300] ● 如果有记载的不耐受事件, 可以随时减少研究药物的剂量。

[1301] ●研究结束时,根据研究者的判断,患者将停止研究药物的使用,并过渡到商业上可用的β阻滞剂治疗。建议以与针对盲法β阻滞剂治疗所述类似的方式过渡到商业性β阻滞剂治疗。

[1302] 访视时间表,如图32所示:

[1303] ●筛选访视和随机访视之间最多有6周的时间。

[1304] ●在药物导入期间,将通过滴定访视来管理研究药物的滴定。这些滴定访视的次数和时间会因患者而异,以提供最佳患者管理的灵活性。在第0周访视后,研究者可以在计划内或计划外访视时继续调高研究药物的剂量。

[1305] ●如果需要,首次ECV应在随机化后4周内发生,但可以在随机化后的8周内进行,如果研究者认为,需要额外的时间来获得适当剂量的研究药物或调整ECV之前的抗凝状态,则首次ECV尝试可在随机化后的8周内进行。不建议在为期4周的药物导入期完成之前执行ECV手术,并且需要申办方或其指定人预先批准。

[1306] ●在26周随访期内,患者将按计划的时间间隔返回诊所,以常规评估疗效和安全性(第4周、8周、12周、18周和26周)。

[1307] ●在延长治疗期间,患者将每6个月返回诊所进行常规疗效和安全性评估。

[1308] ●随访将继续进行,直到至少有400名患者被随机分组,并在26周随访期内观察到235个主要终点事件。该事件后,所有患者将完成26周随访期,或者如果已经在治疗延长期内,则返回诊所进行研究访视。

[1309]

[1310] 主要终点:

[1311] ●在26周的随访期内,首次AF/AFL或ACM事件发生的时间,定义为以下任何时间:

[1312] ■由12导联心电图评估的症状性AF/AFL

[1313] ●与患者报告症状的临床相关变化相关

[1314] ■AF/AFL的临床干预,定义为AF AFL以及以下任何一项的临床证据:

[1315] ●开始使用任何抗心律失常药物进行药理性电复律

[1316] ●电复律(ECV)

[1317] ●消融

[1318] ■全因死亡率

[1319] ●不知情的临床事件委员会(CEC)将裁定潜在的AF/AFL事件。

[1320] 次要终点:

[1321] ●症状性心动过缓或心动过缓导致剂量降低的百分比或

[1322] 在26周随访期内停药。

[1323] ●在药物滴定期内达到目标研究药物剂量的百分比。

[1324] ●心房颤动对生命质量的总体评分相对于基线的变化

[1325] (AFEQT)调查表。

[1326] ●(由研究者评估)在总研究期内发生首次HF住院或心血管疾病死亡率(CVM)的时间。

[1327] 安全终点:

[1328] ●在总研究期内ACM的发生率。

- [1329] ●在药物滴定期内,CVM、心血管相关住院(由研究者评估)或因严重不良事件(SAE)而停药的发生率。
- [1330] ●在总研究期内,中风、TIA或其他血栓栓塞的发生率。
- [1331] ●在总研究期内SAE的发生率和严重程度。
- [1332] ●在总研究期内与肿瘤相关的SAE发生率。
- [1333] ●在总研究期内,随时间的推移,临床实验室测试中与基线相比的变化。
- [1334] ●在总研究期内,生命体征和体重从基线开始随时间变化。
- [1335] ●CYP2D6弱代谢者与SAE的关系。
- [1336] 亚研究和其他终点:
- [1337] ●明尼苏达州心力衰竭患者(MLHF)调查表总体得分与基线相比有所变化。
- [1338] ●与EQ-5D调查表中的基线相比有所变化。
- [1339] ●人群药代动力学分析。
- [1340] ●医疗保健利用的药物经济学模型。
- [1341] ●同意参加可选的连续监护仪(CM)亚研究的患者的AFB。
- [1342] ●AFB定义为患者每天在AF/AFL中的时间,通过美敦力植入装置进行测量。
- [1343] ●由植入的美敦力装置收集的AF/AFL期间的VRR。
- [1344] ●任选的DNA标本库,用于同意参加DNA亚研究的患者。

#### [1345] B. 心力衰竭的心房颤动的治疗

[1346] 大多数具有AF适应症的抗心律失常药物均被禁用于或有明显的标签警告用于HF患者,因为其死亡风险增加,特别是在HF1rEF中。在美国,药物治疗仅限于3类抗心律失常药,胺碘酮和多非利特,并且胺碘酮尚未获准用于这种适应症。此外,胺碘酮具有多种毒性,具有心律失常作用,并可能增加HF1rEF的死亡率。尽管可以通过在治疗机构对院内QT间期进行监测来减少多非利特的前心律失常,但使用多非利特的这一要求并不排除药物诱发的尖端扭转。考虑到这些安全性问题以及AF对HF患者的不良临床后果,显然需要有效预防AF的药物。

[1347] 目前已被证明可用于治疗HF1rEF的β阻滞剂已显示出预防新发AF的轻度疗效,并且在这种情况下通常不加标签使用(根据ACC/AHA/ESC联合指南,IIa类适应症具有AF预防证据的“C”级证据)。在一项HF试验的荟萃分析中,比较了β阻滞剂和安慰剂,发生AF的平均相对风险为0.73(0.61、0.86)。

[1348] HFmrEF是最近定义的HF患者人群,没有针对β阻滞剂或其他HF治疗的指南/适应症。关于β阻滞剂在HFmrEF中的疗效的数据非常有限,并且已经通过对β阻滞剂HF试验或登记处的分析进行了探讨,这些试验或登记处的左心室射血分数在中程范围(40%至49%)。在一项对575例HFmrEF患者的荟萃分析中,β阻滞剂在窦性心律时CVM或CVH有减少的趋势(HR 0.83;95%CI:0.60、1.13),而在AF中则没有这样的趋势(HR 1.06;95%CI:0.58、1.94),这与HF1rEF的报道相似。β阻滞剂预防HFmrEF患者AF的疗效尚未见报道。

[1349] 在Nasr等人的荟萃分析中,安慰剂的AF发生的年事件发生率为安慰剂为5.3%,β阻滞剂治疗为3.8%。如果新发AF是HF临床试验的主要终点,那么这种低阶事件发生率将决定非常大的样本数量(即>4000名患者)。然而,在某些人群中,AF的发作频率要高得多-阵发性或持续性AF的患者最近接受了电复律(ECV)转换为SR。在后一种情况下,即使使用I类和

III类抗心律失常药物,大约50%的患者在ECV转为SR的6个月内将发生AF复发。在包括HF和非HF患者的研究人群中, $\beta$ 阻滞剂已证明AF复发的风险(效应量)降低了30%左右,这类似于在主要的 $\beta$ 阻滞剂HF试验中观察到的对新发AF的影响。在一项研究中,有症状的持续性AF患者接受美托洛尔( $n=83$ )或安慰剂( $n=85$ )治疗,并在治疗开始后约一周接受了ECV SR治疗。在6个月的随访期结束时,美托洛尔组(52%)的AF复发率显著低于安慰剂组(74%)( $p<0.01$ ),两组之间的差异最早出现在ECV后的一周( $p<0.05$ )。早期在类似患者人群中的研究(即,最近将持续性AF转换为SR)显示出ECV后AF复发的发生率相似。例如,Katritsis等人比较了卡维地洛( $n=43$ )和比索洛尔( $n=47$ )对近期转化为SR的持续性AF患者的疗效,观察到AF复发率分别为32%和46%。类似地,Plewan等人比较了索他洛尔( $n=64$ )和比索洛尔( $n=64$ )对近期转化为SR的持续性AF患者的疗效,观察到AF复发率分别为41%和42%。在这两项研究中,几乎所有AF事件都发生在ECV后的前6个月。与新发AF的较低事件发生率相比,复发性症状性AF的预期发生率将允许在合理的时间范围内进行足够有力且控制良好的比较研究。

### [1350] C. 研究设计

[1351] PRECISION-AF是一项双盲、两臂、基因型导向、主动控制的优越性研究,在基因型定义的具有AF复发风险的ADRB1 Arg389Arg HFmrEF人群中,比较了布新洛尔和琥珀酸美托洛尔对首次AF/AFL事件发生时间的影响。

[1352] 患者必须在过去12年内有初步的HF诊断记录,在过去12个月中最新评估的LVEF $\geq 0.40$ 并且 $<0.50$ ,并且没有 $\beta$ 阻滞剂的禁忌证。患者必须在过去的12年内记录初次AF诊断,并且初次AF诊断的日期不能早于初次HF诊断的日期超过2年。患者必须具有持续性或阵发性AF的当前或近期病史,并且如果不在SR中,则临床上应指示ECV。筛选时将对ADRB1 Arg389Gly的患者进行基因分型,ADRB1 Arg389Arg的患者(约50%的患者)将有资格参加该试验。图31示出了基于进入标准的对3期试验成功的可能性的分析。基于这些进入标准,成功的可能性很高。

[1353] 参加该试验的一部分患者将被连续监测其心律,以评估AF负担(AFB)。AFB监测将通过美敦力插入式心脏监护仪(ICM)或其他可以测量AFB的美敦力装置进行。同意插入美敦力装置进行试验的患者可以在随机访视时或在26周随访期开始之前的任何时间插入。

[1354] 符合条件的患者将被随机分配(1:1)接受布新洛尔或美托洛尔(即研究药物)的盲法治疗,每周调高剂量至每天200mg的布新洛尔(100mg BID)或美托洛尔(200mg QD)。随机化将通过以下方式集中和分层:1)随机化时的节奏(SR与AF);2)以前使用过III类抗心律失常药物(是与否);3)先前的消融(是与否);4)植入装置(是与否)。

[1355] 在4周药物导入期之后处于SR的患者将在第0周访视时开始26周的随访期。药物导入期为4周后处于AF状态的患者将在第0周访视时接受ECV,以在26周的随访期开始之前确定研究药物的SR。如果研究者认为,需要额外的时间来获得适当剂量的研究药物或调整ECV之前的抗凝状态,则首次ECV尝试可在随机化后的8周内进行。不建议在为期4周的药物导入期完成之前执行ECV程序,并且需要申办方或其指定人预先批准。

[1356] 在研究药物确定SR后的26周随访期内,将评估主要终点(即首次发生AF/AFL事件的时间)。对于需要ECV的患者,将在ECV至少30分钟后通过ECG确认研究药物上的SR确立。在首次ECV程序后未表现出SR的患者将在开始进行有效性随访之前的两周内尝试进行第二次

ECV程序,除非研究者认为这不是对患者的最佳治疗方案。对于为期26周的随访期,对于在开始随访前未能转换为研究药物的患者,将在确定研究药物SR的ECG当天或最后一次ECV程序的那天开始。

[1357] 在26周随访期内,每次门诊访视时将通过12导联ECG评估心律。在每次ECG评估时,将询问患者是否存在与AF/AFL相关的症状。在26周随访期内,将在所有计划外的门诊访视时询问患者可能与AF/AFL相关的症状,如果报告有新的或恶化的症状,则必须收集12导联的ECG。鼓励发生AF/AFL事件的患者继续使用盲法研究药物,并可能接受临床指示的后续程序或医学干预。

[1358] 在第26周访视后,患者将进入治疗延长期并继续接受双盲研究药物。随访将继续进行,直到至少有400名患者被随机分组,并在26周随访期内观察到235个主要终点事件。此时,所有患者将完成26周随访期,或者如果已经在治疗延长期内,则返回诊所进行研究访视。研究结束时,根据研究者的判断,患者将停止研究药物的使用,并过渡到商业上可用的 $\beta$ 阻滞剂治疗。从研究药物转用时,不会告知研究者和患者治疗分配。

[1359] 该试验采用了一种临时分析/自适应设计方法,该方法将检查来自初始人群(N=250)的初步结果以及主要终点的可评估数据。中期疗效分析有四个潜在结果:1)无效而提前终止试验;2)按计划的400名患者的样本数量完成试验,或者;3)如果条件能力计算在有希望的区域范围内,则完成扩大样本数量为550例的试验。

[1360] D. 访视时间表

[1361] ●筛选访视和随机访视之间最多有6周的时间。

[1362] ●在药物导入期间,将通过滴定访视来管理研究药物的滴定。这些滴定访视的次数和时间会因患者而异,以提供最佳患者管理的灵活性。在第0周访视后,研究者可以在计划内或计划外访视时继续调高研究药物的剂量。

[1363] ●如果需要,首次ECV应在随机化后4周内发生,但可以在随机化后的8周内进行,如果研究者认为,需要额外的时间来获得适当剂量的研究药物或调整ECV之前的抗凝状态,则首次ECV尝试可在随机化后的8周内进行。不建议在为期4周的药物导入期完成之前执行ECV程序,并且需要申办方或其指定人预先批准。

[1364] ●在26周随访期内,患者将按计划的时间间隔返回诊所,以常规评估疗效和安全性(第4周、8周、12周、18周和26周)。

[1365] ●在延长治疗期间,患者将每6个月返回诊所进行常规疗效和安全性评估。

[1366] ●随访将继续进行,直到至少有400名患者被随机分组,并在26周随访期内观察到235个主要终点事件。该事件后,所有患者将完成26周随访期,或者如果已经在治疗延长期内,则返回诊所进行研究访视。

[1367] E. 患者人群

[1368] 患者和研究中心数量:该试验旨在对约400名患者进行随机分组,如果根据临时分析中的“有希望的区域”条件能力计算所决定,则可能增加至550名患者。

[1369] 预计约有50%的筛选患者具有ADRB1 Arg389Arg基因型,并假设该研究筛选失败率为65%(一般标准为15%,由于基因型筛选失败率为50%)。因此,估计将筛选约1150名患者,以随机化400名患者。

[1370] 这项全球研究将包括大约100个中心。对于计划的400名患者的样本数量,每个中



心最多允许40名随机患者(即总入组人数的10%)。

[1371] 患者特征和筛选程序:患者必须符合所有入选标准,且没有以上所列的任何排除标准,才有资格进行本研究的随机化。任何因任何原因(基因型除外)而未能通过筛选的患者都可以再筛选两次。重新筛选的患者将被分配一个新的筛选编号,并将签署新的知情同意书(ICF)。每次筛选都必须在原始文档中充分记录。对于正在重新筛选的患者,无需在随机化后6周内完成仍符合研究入组标准的先前筛选测试。

[1372] F. 剂量原理

[1373] 布新洛尔的起始剂量为25mg/天(12.5mg BID),并耐受每周的剂量滴定,直到达到200mg/天的目标剂量(100mg BID)。这类似于在NYHA II-III类HF群体中早于2期的HF试验(剂量范围:12.5mg BID至100mg BID)和BEST试验(剂量范围:6.25mg BID至100mg BID)中使用的给药方案,其中平均而言,患者的临床HF较当前方案(即,NYHA I-III类)情况下预期的临床HF要更晚期(NYHA III-IV类)。布新洛尔在GENETIC-AF中被良好地耐受,几乎所有患者(89%)均达到方案规定的目标剂量(即,对于<75kg的患者为50mg BID;对于≥75kg的患者为100mg BID)。与在GENETIC-AF中一样,大多数在PRECISION-AF中随机化的患者在随机化之前预期会接受商业β阻滞剂治疗。

[1374] 美托洛尔的剂量与HF rEF的处方信息一致,该信息基于MERIT-HF试验中使用的方法。具体地,起始剂量为25mg/天(25mg QD),并耐受每周的剂量滴定,直到达到200mg/天的目标剂量(200mg QD)。尽管美托洛尔对于人β<sub>1</sub>-AR的亲和力比布新洛尔低,但美托洛尔具有更高的生物利用度和低得多的蛋白质结合,这使得两种研究药物的每日目标剂量相等。

[1375] 通过使用相同的胶囊大小和颜色过度包封布新洛尔和美托洛尔片剂,将实现研究药物的设盲。

[1376] 未随机接受β阻滞剂治疗的患者将以25mg/天的布新洛尔或Toprol-XL开始研究药物,并以盲法将其向上滴定至目标剂量(表51)。筛选期间接受β阻滞剂治疗的患者将在随机化时中断治疗,以相当于商业剂量50%的日剂量开始研究药物,并以盲法将其向上滴定至目标剂量。

[1377] 除非另外说明,否则一粒研究药物胶囊应在早上和在约12小时后的晚上每天两次(BID)地服用。研究药物可以与食物一起或不与食物一起服用。

[1378] 在完成所有方案规定的评估后,应在随机化当天在诊所内施用第一剂研究药物。在随机访视当天,应指示在筛选期间接受商业β阻滞剂治疗的患者停用该药物。根据研究者的判断,不符合随机化资格的患者可以立即重新开始商业β阻滞剂治疗。

[1379] 对于所有随机化的患者,应在首次给药后约12小时服用研究药物的首次傍晚剂量,但不得早于研究药物首次给药后6小时服用。如果这不可能,则患者应跳过第1天的傍晚剂量,而在第二天早上服用第2天的第一剂量。同样地,如果患者在随机化访视当天未停止其商业β阻滞剂的早晨剂量,则应指示他们跳过研究药物的第一早晨剂量,而在其商业β阻滞剂治疗的最后一次剂量后约12小时而不要早于6小时服用第一傍晚剂量。

[1380] 表51:研究药物的滴定计划

先前的商业阻滞剂 <sup>1</sup> 的日剂量 (mg/天)												研究药物 的日剂量 (mg/天)	
美托洛尔 XL/CR/IR		卡维地洛 CR		卡维地洛 IR		比索洛尔		索他洛尔		奈必洛尔		布新洛尔	Toprol-XL
>	≤	>	≤	>	≤	>	≤	>	≤	>	≤	=	=
-	50	-	20	-	12.5	-	2.5	-	160	-	1.25	25	25
50	100	20	40	12.5	25	2.5	5	160	240	1.25	2.5	50	50
100	200	40	80	25	50	5	10	240	320	2.5	5	100	100
200 <sup>2</sup>	-	80 <sup>2</sup>	-	50 <sup>2</sup>	-	10 <sup>2</sup>	-	320 <sup>2</sup>	-	5	10 <sup>2</sup>	200	200
向研究药物的起始剂量转变 →→→												向上滴定 ↓	
<sup>1</sup> 从除以上的那些β阻滞剂转变需要在随机化前获得赞助者或其指派者的批准。 <sup>2</sup> 接受高于目前批准的剂量的商业β阻滞剂的患者将需要在随机化前获得赞助者或其指派者的预先批准。													

[1382] 除非记录了临床禁忌证, 否则应将所有患者的研究药物向上滴定至目标剂量。研究药物的目标剂量为200mg/天的布新洛尔或Toprol-XL。研究者应尽一切合理的努力在每周的计划上向上滴定研究药物, 但如果临床需要, 则可以延迟向上滴定 (例如, 以两周的间隔向上滴定)。少于1周的向上滴定间隔需要发起人或其指派者的预先批准。如果记录到不耐受, 可以随时减少研究药物剂量。向上滴定的目的是在随机化的4周内达到研究药物的目标剂量。对于处于AF且需要ECV的患者, 如果他们在随机化的4周内未达到目标剂量, 则可以延长药物导入期 (即, 延迟的第0周访视)。如果不能延迟ECV和/或患者不能耐受目标剂量, 建议在ECV之前达到至少100mg/天的研究药物。在ECV时不能达到目标剂量的患者在达到SR后应继续向上滴定至目标水平, 因为实现SR可能会提高研究药物的耐受性。

[1383] 应当指示在超过6小时忘记服用研究药物剂量的患者跳过该剂量, 并在下一个指定间隔服用后续的研究药物剂量。经历剂量中断超过2天 (即, 4剂量) 的患者应联系站点, 以确定在重新开始研究药物之前是否需要调整剂量。

[1384] 研究结束时, 根据研究者的判断, 患者将中止研究药物并过渡至可商购获得的β阻滞剂治疗。建议向商业β阻滞剂的过渡以与对开始设盲的β阻滞剂治疗所述的给药算法相似的方式进行。如果在研究结束时不考虑商业β阻滞剂治疗, 则从研究药物过渡将需要在几周内向下滴定。这将通过最终访视前未计划的访视来完成。

[1385] 制剂: 发起人提供研究药物的临床供应, 其包括研究用医药产品 (盐酸布新洛尔) 和活性比较剂 (琥珀酸美托洛尔)。在该研究中使用的琥珀酸美托洛尔是Toprol-XL (AstraZeneca)。通过使用相同的胶囊大小和颜色过度包封布新洛尔和美托洛尔片剂来实现设盲。由于每天施用布新洛尔两次, 且每天施用美托洛尔一次, 因此已为活性比较剂组制造了安慰剂胶囊。

[1386] 按以下剂量强度提供过度包封的布新洛尔: 12.5mg、25mg、50mg和100mg。按以下剂量强度提供过度包封的美托洛尔: 25mg、50mg、100mg和200mg。

[1387] 已将少量微晶纤维素添加到研究药物胶囊中, 作为过度包封过程的一部分, 以回填剩余的空隙空间。已通过用微晶纤维素填充过大的胶囊而制备用于研究的美托洛尔组的安慰剂胶囊。

[1388] G. 随机化和设盲

[1389] 发起人或规定的指派者将准备随机化代码。只有不参与研究的日常行为的人才能在破盲之前知道随机化代码。将通过互联网使用交互式网络响应系统 (IWRS) 进行随机化。随机化将通过以下方式集中和分层: 1) 心律随机化 (SR或AF); 2) 先前使用过III类抗心律失常药物 (是或否); 3) 先前的消融 (是或否); 4) 植入装置 (是或否)。

[1390] 设盲将通过在视觉上无法区分并以编号的试剂盒提供的胶囊中提供研究药物来实现。仅将待施用至特定患者的试剂盒数量,而非研究药物的身份提供给站点。研究者、站点人员和患者在研究药物的过渡时不会被告知设盲的研究药物分配。

[1391] 如果发生医疗紧急情况,研究者可以通过IWRS请求破盲对于患者的研究药物分配。仅当医疗紧急情况的诊断或治疗取决于所接受的研究药物的认知时,才应进行破盲。必须立即联系发起人或其指派者,并提供破盲事件的理由。一旦破盲,可能要求患者中止研究药物,但他/她应继续参与所有其他与研究相关的活动,包括疗效评估。发起人或其指派者将记录任何破盲的患者,包括破盲的理由和日期。

[1392] H. 统计学考量

[1393] 分析群体和终点随访期的定义

[1394] 疗效分析将遵循意向治疗(ITT)原则,并且无论滴定过程是否成功,都将包括所有随机化的患者以研究治疗。作为附加的敏感性分析,疗效终点测试将在符合方案的亚群体中进行。安全性分析将包括接受至少一剂量设盲的研究治疗的患者。筛选的群体包括任何签署对于研究知情同意的患者。筛选失败群体是筛选群体的亚群体,其由于任何原因未对研究药物随机化。

[1395] 将定义四个随访期,以将每个患者的结果包含在终点计算中:

[1396] ●药物滴定期:从随机化治疗开始之日开始,并在随机化后延续6周。

[1397] ●26周随访期:从建立SR的ECG当天开始,或从对于未能转变为稳定SR的患者的最后一次ECV程序开始。在第26周访视时,随访将审查主要终点,以及对于未经历该访视事件的患者的所有其他26周终点。

[1398] ●总随访期:从26周随访期的同一天开始,并延续直到最终研究访视。

[1399] ●整个研究期:从随机化治疗开始之日开始,并延续直到最终研究访视。

[1400] 研究群体分析

[1401] 筛选失败原因将按频率顺序制成表格。

[1402] 对于具有描述性统计信息的随机化治疗组,将总结以下特征的分布(例如,对于连续变量的平均值、标准误差、标准偏差、中位数、最小值、最大值和患者数,以及对于类别变量的百分比计数):

[1403] ●人口统计

[1404] ●心血管疾病史和AF危险因素

[1405] ●对于CHADS<sub>2</sub>评分、NYHA功能分类、生命体征、ECG和实验室参数的基线结果

[1406] ●其他布新洛尔相关的基因(例如,ADRA2C插入322-325缺失和CYP2D6)

[1407] ●最终研究处置类别

[1408] ●治疗暴露于

[1409] ○达到目标剂量的患者

[1410] ○滴定时间的长短和结果

[1411] ○按剂量和总体进行双盲治疗的天数

[1412] ○依从性

[1413] ●在基线和整个研究期间使用伴随药物

[1414] ●方案偏差

- [1415] 对于几种关键研究程序的度量将用通过随机化治疗组的描述性统计信息来呈现：
- [1416] ●植入装置的类型/制造商
- [1417] ●在开始26周随访期之前经过的治疗天数
- [1418] ●ECV之前经过的治疗天数
- [1419] ●ECV的结果
- [1420] 主要终点
- [1421] 主要终点是在26周随访期期间首次AF事件所经过的时间。这是在研究药物上建立SR后的26周随访中对事件终点进行审查的时间。Cox比例风险模型将用于计算估计的风险比和95%的置信区间，并按预先设定的随机分层来分层：1) 心律随机化(SR或AF)；2) 先前使用过III类抗心律失常药物(是或否)；3) 先前的消融(是或否)；4) 植入装置(是或否)。分析方法还将分别应用于该复合终点的每个组成部分(即，症状性AF/AFL、对于AF的临床干预和ACM)。以下定义适用于该终点：
- [1422] ●研究药物上的SR定义为以下中的任一种：
- [1423] ○在ECV后通过ECG $\geq$ 30分钟来确认SR。
- [1424] ○对于不需要ECV来完成药物导入期的患者(例如，在随机化和第0周访视时便确认SR)，通过间隔至少30分钟收集的两次连续ECG来确认SR。
- [1425] ○对于在完成药物导入期之前自发地由AF转变为SR的患者，通过间隔至少30分钟收集的两次连续ECG来确认SR。
- [1426] ●AF事件定义为以下中的任一种：
- [1427] ○症状性AF/AFL定义为通过12导联ECG评估的AF或AFL，其与患者报告的症状中的临床相关变化相关，如通过设盲数据的CEC检查所确定的
- [1428] ○对于AF的临床干预定义为AF和以下中的任一种的临床证据：
- [1429] ■开始使用任何抗心律失常药物用于药理性心脏复律
- [1430] ■ECV
- [1431] ■消融
- [1432] ○全因死亡率(包括在主要终点中以说明竞争风险)。
- [1433] 潜在的AF事件将由设盲的临床事件委员会(CEC)裁决。CEC章程将描述他们确定AF事件并确定AF事件发生日期和时间的方法。
- [1434] 以下情况对于患者的小亚组来说是可能的：
- [1435] 1. 由于退出或除那些以下所述的任何其他原因导致未进行ECV程序，未能获得研究药物上的SR。这些患者将包括在随访的第1天审查的分析中。
- [1436] 2. ECV后未能获得研究药物上的SR。这些患者将包括在终点计算中，因为其经历了随访第1天的该事件。
- [1437] 3. 在随机化后和在研究药物上转变为SR之前出现死亡将被算作第1天的事件。
- [1438] 在探究性分析中，协变量和分层变量将作为可能相关的解释变量包括在Cox回归模型中。在收集大量(例如， $<25\%$ )的数据之前和在中期分析之前，将在SAP中预先设定这些变量。
- [1439] 次要终点
- [1440] 如果布新洛尔满足主要终点的优势标准，则将通过固定顺序测试在以下终点中布

新洛尔相对于美托洛尔的优势。以下用于研究的统计分析方法将在“统计分析计划”中进一步详细描述。

[1441] ●在26周的随访期期间经历症状性心动过缓或心动过缓导致研究药物的剂量降低或中止的百分比。将使用Cochran-Mantel-Haenszel统计信息测试该终点,以控制四个分层变量。在研究药物中止时还将进行支持性分析以评估该终点。

[1442] ●在药物滴定期间达到目标研究药物剂量的百分比。将使用Cochran-Mantel-Haenszel统计信息测试该终点,以控制四个分层变量。在研究药物中止时还将进行支持性分析以评估该终点。还将对随机化中接受和未接受先前的 $\beta$ 阻滞剂治疗的亚群体进行支持性分析。

[1443] ●心房颤动对生活质量的影晌(AFEQT)问卷的总体得分中与基线相比的变化。支持性分析将在症状分量表分数中检查与基线相比的变化。

[1444] ●在整个研究期期间(由研究者评估)HF住院治疗的首次事件或心血管死亡率(CVM)的时间。支持性分析将涉及应用于每个组成部分(即,HFH、CVM)的相同分析方法。

[1445] 安全性终点

[1446] 以下安全性终点的结果将与接受研究治疗的所有患者在治疗组之间的描述性统计信息进行比较。除非另有说明,否则对于每位患者从研究药物的第一剂量至最后剂量的30天内收集的所有结果都将包括在安全性评估中。探究性分析还将检查其他与布新洛尔相关的基因(即,ADRA2C插入322-325缺失和CYP2D6)中的多态性及其与安全性终点的关系。

[1447] ●在整个研究期期间ACM的发生率。

[1448] ●在药物滴定期间,CVM的发生率、与心血管相关的住院治疗(由研究者评估)或由于SAE导致的收回研究药物。组成部分也将单独检查。

[1449] ●在整个研究期期间中风、TIA或其他血栓栓塞的发生率。

[1450] ●在整个研究期期间SAE的发生率和严重性。

[1451] ●在整个研究期期间与肿瘤相关的SAE的发生率。这些特别感兴趣的SAE将根据以下特征制成表格:

[1452] o治疗紧急的肿瘤病症的发展。

[1453] o研究前的肿瘤病症的进展或恶化。

[1454] o治疗紧急的肿瘤病症的进展或恶化。

[1455] ●在整个研究期期间,临床实验室测试随时间相对于基线的变化。对于临床实验室测试,其值超出正常范围界限的患者的数量和百分比。

[1456] ●在整个研究期期间,生命体征和体重随时间相对于基线的变化。

[1457] ●CYP2D6弱代谢者与SAE的关系

[1458] 亚研究和其他终点

[1459] ●明尼苏达州心力衰竭患者(MLHF)调查表总体得分相对于基线的变化

[1460] ●EQ-5D调查表中相对于基线的变化

[1461] o EQ-5D调查表具有5个维度(活动性、自我护理、日常活动、疼痛/不适和焦虑/抑郁),并且每个维度通过患者自我评分为没有问题、有一些问题或严重问题。将使用Cochran-Mantel-Haenszel统计信息控制四个分层变量,以测试布新洛尔治疗组的优异反应。

[1462] ●群体药代动力学分析。

[1463] ○稀疏的采样数据将与其他布新洛尔研究相结合,以检验固有变量和非固有变量对有效性和安全性的暴露-响应关系的潜在影响。CYP2D6中的多态性是主要负责布新洛尔代谢的酶,其作为特别感兴趣的协变量被检查。

[1464] ○该分析的详细信息将在单独的分析计划中预先设定,并在患者随访结束和随机化的治疗分配破盲之前提交。

[1465] ●医疗保健使用的药物经济学模型。

[1466] ○该分析的详细信息将在单独的分析计划中预先设定,并在患者随访结束和随机化的治疗分配破盲之前提交。

[1467] ●同意参加亚研究的患者的AFB。

[1468] ○AFB定义为患者处于AF/AFL中的每天时间量,其通过Medtronic植入装置来测量。

[1469] ○CM亚研究的主要终点将通过第26周的访视来测量。这是首次事件分析的时间,AF/AFL事件定义为一天中至少6个小时的AFB。将使用与主要终点相同的方法进行分析。

[1470] ○AFB将以小时/天表示,并具有描述性统计信息和图形显示。

[1471] ○其他分析将检查所有可用的AFB数据,包括通过植入的Medtronic装置收集的AF/AFL期间的VRR。

[1472] ●DNA库

[1473] ○对于同意参加任选的DNA亚研究的患者。

[1474] 功效和样本大小

[1475] GENETIC-AF是在美国、加拿大和欧洲进行的2B期试验,其比较了布新洛尔和琥珀酸美托洛尔(Toprol-XL)预防具有ADRB1 Arg389Arg基因型的HF患者的复发性AF/AFL或ACM。该试验将具有中等范围LVEF $\geq 0.40$ 且 $< 0.50$ (HFmrEF)的HF患者和具有低范围LVEF $< 0.40$ (HF1rEF)的HF患者随机化。

[1476] 根据间歇性ECG监测,在主要终点的总群体中观察到了相似的结果( $N=267$ ;HR=1.01;95% CI:0.71,1.42),但对于美国亚组的预先设定分析,观察到了布新洛尔益处的趋势( $N=127$ ;HR=0.70;95% CI:0.41,1.19)。在使用植入装置进行连续心律监测的患者的亚研究中,在整个亚研究群体中( $N=69$ ;HR=0.75;95% CI:0.43,1.32)和美国亚研究群体中( $N=42$ ;HR=0.50;95% CI:0.17,1.42)观察到了布新洛尔益处的趋势,其基于每天 $\geq 6$ 小时的装置检测到的AF负担,达到第一个AF/AFL事件终点的预期确定时间。

[1477] 在对GENETIC-AF主要终点的事后分析中,排除了具有长期AF和HF $> 12$ 岁的患者,并观察到了布新洛尔益处的强烈趋势( $N=230$ ;HR=0.68;95% CI:0.45,1.02),当该群体限于发展HF之前超过2年不具有AF的患者时,其具有统计学显著性( $N=196$ ;HR=0.54;95% CI:0.33,0.87; $p=0.011$ )。在该群体中,与在HFmrEF群体中的美托洛尔相比,观察到布新洛尔的主要终点显著减少( $N=91$ ;HR=0.42;95% CI:0.21,0.86; $p=0.017$ );而在HF1rEF群体中观察到非显著的趋势( $N=105$ ;HR=0.69;95% CI:0.33,1.43)。

[1478] 根据与美国FDA达成的特定协议约定,如果主要终点是显著性的且 $p$ 值 $\leq 0.01$ ,则单个3期试验可能足以获得监管批准。因此,对于各种美托洛尔事件率和布新洛尔治疗效果的假设,以低于0.01和0.05的 $\alpha$ 水平提供了主要终点的功效估算。美托洛尔事件率估算是基

于2B期数据,其对于HFmrEF群体的24周随访为55%。布新洛尔治疗效果估算为30%至50%,对应的HR范围约为0.50至0.70。

[1479] 如表52所示,一项400名患者的研究将具有>90%的功效,以实现在26周时布新洛尔的治疗效果大小为40%和美托洛尔事件率为55%的 $p \leq 0.05$ 。对于相同的假设,对于实现布新洛尔的治疗效果大小为35%的 $p$ -值 $\leq 0.05$ ,该试验将具有>80%的功效。

[1480] 表52:对于主要终点的功效:400名患者且 $\alpha = 0.05$

美托洛尔事件率	布新洛尔的治疗效果				
	30%	35%	40%	45%	50%
45%	61.2%	76.3%	88.0%	95.1%	98.5%
50%	65.9%	80.7%	91.1%	96.8%	99.2%
55%	70.3%	84.5%	93.6%	98.0%	99.6%
60%	74.3%	87.7%	95.5%	98.8%	99.8%
65%	77.9%	90.3%	96.8%	99.3%	99.9%

[1482] 如表53所示,一项400名患者的研究将具有>90%的功效,以实现在26周时布新洛尔的治疗效果大小为45%和美托洛尔事件率为55%的 $p \leq 0.01$ 。对于相同的假设,对于实现布新洛尔的治疗效果大小为40%的 $p$ -值 $\leq 0.01$ ,该试验将具有>80%的功效。

[1483] 表53:对于主要终点的功效:400名患者且 $\alpha = 0.01$

美托洛尔事件率	1. 布新洛尔的治疗效果					
	2. 30%	3. 35%	4. 40%	5. 45%	6. 50%	
7. 45%	8. 37.0%	9. 53.9%	10. 71.1%	11. 85.0%	12. 93.9%	
13. 50%	14. 41.9%	15. 60.0%	16. 76.8%	17. 89.3%	18. 96.3%	
19. 55%	20. 46.8%	21. 65.6%	22. 81.8%	23. 92.6%	24. 97.8%	
25. 60%	26. 51.4%	27. 70.7%	28. 85.9%	29. 95.0%	30. 98.8%	
31. 65%	32. 56.1%	33. 75.3%	34. 89.3%	35. 96.7%	36. 99.3%	

[1485] 中期分析

[1486] 设盲的安全数据(例如,A组和B组)将被汇总,以由独立的DSMB进行检查,并将定期进行审核。DSMB主席还将在研究期间定期(例如,每月一次)监测安全数据的子集。如果在任何时候观察到各组在临床上的显著失衡,则DSMB主席可能会要求破盲的分析。

[1487] 除了这些常规的安全性审核外,DSMB还将进行中期疗效分析,该分析将检查初始群体(N=250)的初步结果,并提供对于主要终点的可评估数据。中期疗效分析具有四个潜在结果:1)提前终止无用的试验;2)按计划的400名患者的样本量完成试验,或;3)以550名患者的扩充样本量完成试验。

[1488] 如果不满足无用标准,并且DSMB确定初步数据与试验前假设(即,事件发生率、治疗效果和功效)一致,则该试验将按计划的400名患者的样本量进行。如果DSMB确定需要扩大总样本量以保持足够的功效进行最终分析,则该试验将以550名患者的总样本量继续完成。样本量的潜在增加是被称为“有前途区域”设计的方法论策略,其在统计文献中有据可



查<sup>56,67</sup>。将不会向研究者提供确定样本量调整的特定标准,但这些标准将在DSMB章程中预先设定,并将被选择以保持1类错误率。

[1489] 在以下显示了对于550名患者的扩充样本量,对于各种美托洛尔事件率和治疗益处假设的主要终点的功效估算。美托洛尔事件率估算范围为45%至65%,布新洛尔治疗效果估算范围为30%至50%,其对应于约0.50至0.70的HR范围。

[1490] 如表54所示,一项550名患者的研究将具有>90%的功效,以实现在26周时布新洛尔的治疗效果大小为35%和美托洛尔事件率为55%的 $p$ 值 $\leq 0.05$ 。对于相同的假设,对于实现布新洛尔的治疗效果大小为30%的 $p$ -值 $\leq 0.05$ ,该试验将具有>80%的功效。

[1491] 表54:对于主要终点的功效:550名患者且 $\alpha=0.05$

美托洛尔事件率	布新洛尔的治疗效果				
	30%	35%	40%	45%	50%
45%	74.9%	88.0%	95.6%	98.9%	99.8%
[1492] 50%	79.4%	91.3%	97.3%	99.4%	99.9%
55%	83.3%	93.7%	98.3%	99.7%	99.9%
60%	86.5%	95.5%	99.0%	99.9%	99.9%
65%	89.2%	96.9%	99.4%	99.9%	99.9%

[1493] 如表55所示,一项550名患者的研究将具有>90%的功效,以实现在26周时布新洛尔的治疗效果大小为40%和美托洛尔事件率为55%的 $p$ 值 $\leq 0.01$ 。对于相同的假设,对于实现布新洛尔的治疗效果大小为35%的 $p$ -值 $\leq 0.01$ ,该试验将具有>80%的功效。

[1494] 表55:对于主要终点的功效:550名患者且 $\alpha=0.01$

美托洛尔事件率	布新洛尔的治疗效果				
	30%	37. 35%	38. 40%	39. 45%	40. 50%
45%	52.2%	71.3%	86.4%	95.1%	98.8%
[1495] 50%	58.2%	77.1%	90.4%	97.1%	99.4%
55%	63.6%	82.0%	93.4%	98.4%	99.7%
60%	68.7%	86.0%	95.6%	99.1%	99.9%
65%	73.3%	89.4%	97.1%	99.5%	99.9%

[1496] 因此,这种适应的中期分析策略在一系列潜在治疗效果中保持足够的功效,以测试在预防具有ADRB1 Arg389Arg基因型的目标HF群体中,布新洛尔优于美托洛尔的假设。DSMB章程中将提供中期疗效分析的其他详细信息,该章程将在招募目标样本量的10%之前确定。

[1497] 显著性

[1498] 在试验结束时,将降低主要终点的 $\alpha$ 水平,以调整中期分析的 $\alpha$ 水平( $\alpha=0.00001$ )。因此,对于主要终点的显著性结果, $p$ 值将为 $\leq 0.04999$ 。

[1499] 根据与美国FDA达成的特定协议约定,如果主要终点是显著性的且 $p$ 值 $\leq 0.01$ (其对应于在中期分析调整 $\alpha$ 水平时 $p \leq 0.00999$ ),则单个3期试验可能足以获得监管批准。

[1500] 偏差报告

[1501] 所有具有方案偏差的患者都将包括在ITT分析中;有限的符合方案分析将单独进

行。在研究开始期间,站点将收到方案偏差报告的说明。此外,站点将负责根据需要向其各自的IRB/IEC报告此类事件。如果在监测访视期间发现方案偏差,则将对违规站点教育,重犯者将被暂停招募其他患者。

[1502] 将分析治疗组之间方案偏差的差异。

[1503] \* \* \*

[1504] 本文中公开和要求保护的所有方法可以根据本公开制成和实现而不需要过度的实验。尽管本发明的组合物和方法已经按照优选的实施方案进行了描述,但是对于本领域技术人员明显的是,在不脱离本发明的概念、精神和范围的情况下可以对方法以及在本文所描述方法的步骤或步骤的顺序中实施变化。更具体地,明显地,化学和生理两方面都相关的特定试剂可以替代本文所描述的试剂,同时会实现相同或相似的结果。所有对本领域技术人员明显的这类相似的替代和改变都被视为在如由所附权利要求限定的本发明的精神、范围和概念内。

[1505] 附录

[1506]  $\Delta$  去甲肾上腺素 (NE) 和NT-proBNP数据

[1507] 表27:去甲肾上腺素,pg/ml

参数	整个队列 (n = 267)		美国 (n=127)		加拿大 (n=59)		匈牙利 (n=33)		除匈牙利的 欧洲 (n = 48)	
	美托洛尔 128/133	布新洛尔 134/134	美托洛尔 64/67	布新洛尔 60/60	美托洛尔 26/27	布新洛尔 32/32	美托洛尔 15/15	布新洛尔 18/18	美托洛尔 23/24	布新洛尔 24/24
基线 平均值 ± SD	664 ±359	682 ±349	664 ±386	650 ±362	674 ±429	642 ±341	627 ±258	767 ±270	675 ±250	753 ±375
基线 中位数	590	607	599	598	541	522	571	792	592	691
第4周的数据在表10中										
第12周 平均值 ± SD	605 ±266	570 ±275	576 ±246	529 ±267	577 ±273	528 ±252	716 ±308	638 ±254	640 ±283	683 ±318
第12周 中位数	566	520	560	466	563	484	590	690	614	611
Δ第12周 平均值 ±SEM	-64 ±30	-118 ±27	-100 ±43	-128 ±49	-111 ±57	-133 ±48	144 ±89	-172 ±63	-52 ±65	-34 ±51
Δ第12周 中位数	-57	-100	-66	-86	-85	-100	37	-171	-76	-55
P值相对于 Bsl*/P值 相对于Met†	0.023	<0.0001 /0.18	0.07	0.011 /0.52	0.061*	0.016 /0.80	0.20	0.022 /0.008	0.26	0.57 /0.69
第24周 平均值 ± SD	690 ±414	631 ±329	639 ±472	585 ±336	722 ±303	623 ±276	716 ±301	711 ±267	904 ±348	798 ±459
第24周 中位数	586	545	519	498	690	564	668	736	924	729
Δ第24周 平均值 ±SEM	2 ±33	-64 ±31	-46 ±40	-86 ±40	18 ±75	-38 ±54	148 ±336	-132 ±296	105 ±126	56 ±152
Δ第24周 中位数	-24	-47	-46	-46	-10	-21	-42	-193	232	-82
P值相对于 Bsl*/P值相 对于Met†	0.90	0.012 /0.16	0.17	0.058 /0.74	0.83	0.72 /0.58	0.43	0.034 /0.065	0.64	0.70 /0.33

[1508]

[1509] \*对于组内变化的威尔科克森符号秩检验; †对于组间变化的威尔科克森符号秩和检验

[1510] 表28:NT-proBNP (pg/ml)

参数	整个队列 (n = 267)		美国 (n=127)		加拿大 (n=59)		匈牙利 (n=33)		除匈牙利的欧洲 (n = 48)	
	美托洛尔 123/133	布新洛尔 125/134	美托洛尔 62/67	布新洛尔 55/60	美托洛尔 26/27	布新洛尔 29/32	美托洛尔 14/15	布新洛尔 17/18	美托洛尔 21/24	布新洛尔 24/24
基线 平均值±SD	1343 ±1846	1159 ±1306	1499 ±2033	1245 ±1332	1646 ±2303	1314 ±1503	781 ±458	989 ±1428	883 ±880	893 ±849
基线 中位数	861	777	982	904	913	790	785	567	521	600
第4周的数据在表11中										
第12周 平均值±SD	1134 ±1197	1052 ±1923	1224 ±1240	1383 ±2538	1338 ±1504	674 ±767	864 ±876	1095 ±1929	867 ±885	782 ±1256
第12周 中位数	652	470	661	561	845	432	593	446	526	376
Δ 第12周 平均值 ±SEM	-135 ±124	-108 ±133	-63 ±190	+130 ±262	-482 ±355	-602 ±232	+45 ±190	+40 ±170	-70 ±184	-101 ±164
Δ 第12周 中位数	-50	-96	-99	-81	-36	-176	+75	-96	-20	-92
P值相对于 Bsl*/P值 相对于Met†	0.198	0.002 /0.051†	0.38	0.36 /0.40	0.25	0.001 /0.105	0.70	0.64 /0.54	0.68	0.029 /0.30
第24周 平均值±SD	1334 ±1732	1135 ±1632	1374 ±1839	1124 ±1516	1382 ±1974	831 ±961	1150 ±784	1244 ±2515	1108 ±962	1859 ±2282
第24周 中位数	661	502	547	653	623	425	1019	244	765	593
Δ 第24周 平均值 ±SEM	-206 ±176	-92 ±136	-158 ±258	-163 ±161	-489 ±361	-442 ±223	+201 ±219	+41 ±276	-133 ±153	+983 ±712
Δ 第24周 中位数	-100	-197	-135	-315	-106	-271	+150	-176	-101	-48
P值相对于 Bsl*/P值 相对于Met†	0.014	0.005 /0.22	0.024	0.031 /0.91	0.18	0.057 /0.45	0.47	0.102 /0.113	0.47	0.92 /0.92

[1511]

[1512] \*威尔科克森符号秩检验;威尔科克森符号秩和检验

[1513] Δ 在总随访期间的安全性

[1514] 表29:治疗紧急的不良事件(在任何组中所有SOC和AE≥3%)

[1515]

终点	美托洛尔 (N=133)	布新洛尔 (N=134)
任何不良事件	95 (71.4%)	100 (74.6%)
心脏障碍	35 (26.3%)	32 (23.9%)
充血性心力衰竭	9 (6.8%)	6 (4.5%)
心动过缓	9 (6.8%)	5 (3.7%)
心力衰竭	5 (3.8%)	6 (4.5%)
窦性心动过缓	8 (6.0%)	0 (0.0%)
感染和侵袭	29 (21.8%)	36 (26.9%)
上呼吸道感染	6 (4.5%)	7 (5.2%)
鼻咽炎	4 (3.0%)	4 (3.0%)
支气管炎	4 (3.0%)	2 (1.5%)
流行性感冒	3 (2.3%)	4 (3.0%)
肺炎	1 (0.8%)	4 (3.0%)
肌肉骨骼障碍和结缔组织障碍	18 (13.5%)	33 (24.6%)
关节痛	3 (2.3%)	7 (5.2%)
肢体痛	2 (1.5%)	5 (3.7%)
背痛	4 (3.0%)	3 (2.2%)
胃肠道障碍	24 (18.0%)	28 (20.9%)
腹泻	6 (4.5%)	6 (4.5%)
恶心	5 (3.8%)	5 (3.7%)
便秘	2 (1.5%)	8 (6.0%)
神经系统障碍	24 (18.0%)	24 (17.9%)
头晕	3 (2.3%)	5 (3.7%)
头痛	5 (3.8%)	6 (4.5%)
晕厥	4 (3.0%)	4 (3.0%)
一般性障碍和施用部位状况	23 (17.3%)	18 (13.4%)
疲劳	7 (5.3%)	6 (4.5%)
周围性水肿	5 (3.8%)	3 (2.2%)
胸痛	4 (3.0%)	2 (1.5%)
血管性障碍	18 (13.5%)	19 (14.2%)
低血压	10 (7.5%)	13 (9.7%)
新陈代谢障碍和营养障碍	15 (11.3%)	18 (13.4%)
痛风	4 (3.0%)	3 (2.2%)
低镁血症	0 (0.0%)	4 (3.0%)
呼吸障碍、胸部障碍和纵膈障碍	13 (9.8%)	21 (15.7%)
呼吸困难	6 (4.5%)	3 (2.2%)
咳嗽	3 (2.3%)	4 (3.0%)
鼻衄	0 (0.0%)	4 (3.0%)
受伤、中毒和程序性并发症	16 (12.0%)	14 (10.4%)
撕裂	4 (3.0%)	1 (0.7%)
调查	10 (7.5%)	16 (11.9%)
肾脏障碍和尿障碍	12 (9.0%)	13 (9.7%)
急性肾损伤	5 (3.8%)	6 (4.5%)
皮肤障碍和皮下组织障碍	8 (6.0%)	11 (8.2%)
精神障碍	12 (9.0%)	2 (1.5%)
抑郁	4 (3.0%)	1 (0.7%)

[1516]	眼病	3 (2.3%)	8 (6.0%)
	良性肿瘤、恶性肿瘤和未指定的肿瘤	8 (6.0%)	3 (2.2%)
	耳部障碍和迷路障碍	5 (3.8%)	3 (2.2%)
	肝胆障碍	3 (2.3%)	4 (3.0%)
	血液障碍和淋巴系统障碍	3 (2.3%)	4 (3.0%)
	内分泌障碍	4 (3.0%)	2 (1.5%)
	生殖系统障碍和乳腺障碍	4 (3.0%)	0 (0.0%)
	产品问题	1 (0.8%)	2 (1.5%)
	免疫系统障碍	1 (0.8%)	1 (0.7%)
注：发病率表示为患者数(%)。对于每个优选项，对患者计数一次，在每个SOC(系统器官类)中对患者计数一次，对具有任何不良事件的患者总数计数一次。包括在最终研究访视后30天内发作的事件。 来源：表S04。			

[1517] 表30:治疗紧急的严重不良事件(在任何组中所有SOC和AE $\geq$ 3%)

[1518]	终点	美托洛尔 (N=133)	布新洛尔 (N=134)
	任何不良事件	26 (19.5%)	33 (24.6%)
	心脏障碍	13 (9.8%)	12 (9.0%)
	充血性心力衰竭	7 (5.3%)	2 (1.5%)
	感染和侵袭	4 (3.0%)	6 (4.5%)
	呼吸障碍、胸部障碍和纵膈障碍	2 (1.5%)	7 (5.2%)
	血管性障碍	4 (3.0%)	3 (2.2%)
	肾脏障碍和尿障碍	2 (1.5%)	4 (3.0%)
	胃肠道障碍	2 (1.5%)	2 (1.5%)
	一般性障碍和施用部位状况	2 (1.5%)	2 (1.5%)
	肝胆障碍	1 (0.8%)	3 (2.2%)
	受伤、中毒和程序性并发症	1 (0.8%)	2 (1.5%)
	新陈代谢障碍和营养障碍	1 (0.8%)	2 (1.5%)
	良性肿瘤、恶性肿瘤和未指定的肿瘤	3 (2.3%)	1 (0.7%)
	神经系统障碍	2 (1.5%)	2 (1.5%)
	产品问题	1 (0.8%)	2 (1.5%)
	肌肉骨骼障碍和结缔组织障碍	0 (0.0%)	2 (1.5%)
	耳部障碍和迷路障碍	1 (0.8%)	0 (0.0%)
注：发病率表示为患者数(%)。对于每个优选项，对患者计数一次，在每个SOC(系统器官类)中对患者计数一次，对具有任何不良事件的患者总数计数一次。包括在最终研究访视后30天内发作的事件。			

[1519] 表31:在总研究期期间出现的选择事件

[1520]

终点	美托洛尔 (N=133)	布新洛尔 (N=134)
任何严重的不良事件	26 (20%)	33 (25%)
心血管的严重不良事件	13 (10%)	12 (9%)
全因死亡率	3 (2%)	3 (2%)
心血管的死亡率	2 (2%)	1 (1%)
心力衰竭的死亡率	1 (1%)	0 (0%)
全因住院治疗	20 (15%)	27 (20%)
心血管的住院治疗	14 (11%)	17 (13%)
心力衰竭的住院治疗	10 (8%)	9 (7%)
任何心动过缓	16 (12%)	5 (4%)
症状性心动过缓	7 (5%)	5 (4%)
无症状性心动过缓	10 (8%)	0 (0%)
Cr > 3.0的发生率	1 (1%)	1 (1%)
胆红素> 2.0的发生率	2 (2%)	1 (1%)
注：治疗中止后超过30天发作的事件被忽略。对于每个终点对患者计数一次。		

[1521] 表32:治疗紧急的心动过缓不良事件

[1522]

终点	美托洛尔 (N=133)	布新洛尔 (N=134)
任何心动过缓事件	16 (12%)	5 (4%)
无症状性心动过缓事件	10 (8%)	0 (0%)
症状性心动过缓事件	7 (5%)	5 (4%)
导致研究药物中止的心动过缓事件	1 (1%)	1 (1%)
导致研究药物剂量下降的心动过缓事件	11 (8%)	3 (2%)
导致研究药物剂量中断的心动过缓事件	2 (2%)	0 (0%)
注：对于每个特征对患者计数一次。		

[1523] 表33:节律相关的事件和心血管事件

[1524]

终点	美托洛尔 (N=133)	布新洛尔 (N=134)
成功的SR后额外的ECV	30 (23%)	37 (28%)
消融	18 (14%)	21 (16%)
抗心律失常治疗	44 (33%)	46 (34%)
速率控制治疗	15 (11%)	20 (15%)
起搏器植入	3 (2%)	1 (1%)
ICD植入	7 (5%)	5 (4%)
CAD	1 (1%)	8 (6%)
脑卒中	0 (0%)	0 (0%)
TIA	1 (1%)	0 (0%)
非CNS栓塞	0 (0%)	0 (0%)
心室扑动	1 (1%)	1 (1%)
症状性SVT	1 (1%)	0 (0%)
VT≥15或必需的治疗	0 (0%)	3 (2%)
心脏传导阻滞(Mobitz I/II, 2:1, 或第3级)	0 (0%)	0 (0%)
ICD上的适当烧制	1 (1%)	0 (0%)
导管插入术	1 (1%)	5 (4%)
CV手术	0 (0%)	0 (0%)
注：包括了至少一次后随机化访视的患者。心动过缓出现在终点表中。		

[1525] 表34:计划的收集访视时的收缩压和心律



终点	收缩压 (mmHg)		心律 (bpm)	
	美托洛尔 (N=133)	布新洛尔 (N=134)	美托洛尔 (N=133)	布新洛尔 (N=134)
基线				
N	133	134	131	134
平均值 ± SEM	121.8 ± 1.4	124.7 ± 1.3	76.0 ± 1.5	76.5 ± 1.5
最小值, 最大值	90.0, 149	86.0, 154	43.0, 119	38.0, 135
与基线相比第4周的变化				
N	119	125	121	125
平均值 ± SEM	0.8 ± 1.3	-0.3 ± 1.5	-4.1 ± 1.7	0.1 ± 1.6
最小值, 最大值	-30, 44.0	-39, 51.0	-57, 60.0	-75, 34.0
与基线相比第12周的变化				
N	116	124	117	122
平均值 ± SEM	1.8 ± 1.4	-0.5 ± 1.8	-7.3 ± 1.5	-1.5 ± 1.8
最小值, 最大值	-34, 54.0	-67, 56.0	-55, 29.0	-76, 55.0
与基线相比第24周的变化				
N	103	106	104	106
平均值 ± SEM	1.4 ± 1.6	-1.1 ± 1.5	-6.4 ± 1.9	0.1 ± 2.3
最小值, 最大值	-33, 40.0	-39, 42.0	-54, 74.0	-78, 93.0

注: 心律通过ECG确定。

[1527] Δ CYP2D6遗传变异对不良事件的影响

[1528] 表35: 治疗紧急的不良事件(在任何组中所有SOC和AE ≥ 3%), CYP2D6基因型

终点	强代谢者/超快代谢者 (N=216)		弱代谢者 (N=20)	
	N	%	N	%
任何不良事件	161	75%	16	80%
心脏障碍	58	27%	7	35%
充血性心力衰竭	11	5%	3	15%
心动过缓	12	6%	1	5%
心力衰竭	9	4%	0	0%
窦性心动过缓	5	2%	2	10%
感染和侵袭	53	25%	5	25%
上呼吸道感染	11	5%	1	5%
鼻咽炎	5	2%	1	5%
支气管炎	6	3%	0	0%
流行性感冒	6	3%	1	5%
肺炎	3	1%	2	10%
肌肉骨骼障碍和结缔组织障碍	35	16%	7	35%
关节痛	6	3%	2	10%
肢体痛	3	1%	2	10%
背痛	5	2%	1	5%
胃肠道障碍	41	19%	4	20%
腹泻	12	6%	0	0%

[1530]

恶心	9	4%	0	0%
便秘	4	2%	3	15%
神经系统障碍	39	18%	3	15%
头晕	9	4%	0	0%
头痛	10	5%	0	0%
晕厥	7	3%	1	5%
一般性障碍和施用部位状况	30	14%	4	20%
疲劳	8	4%	1	5%
周围性水肿	5	2%	1	5%
胸痛	4	2%	1	5%
血管性障碍	30	14%	1	5%
低血压	19	9%	0	0%
新陈代谢障碍和营养障碍	23	11%	2	10%
痛风	5	2%	0	0%
低镁血症	3	1%	0	0%
呼吸障碍、胸部障碍和纵膈障碍	26	12%	2	10%
呼吸困难	5	2%	0	0%
咳嗽	5	2%	1	5%
鼻衄	3	1%	1	5%
受伤、中毒和程序性并发症	27	13%	2	10%
撕裂	5	2%	0	0%
调查	22	10%	1	5%
肾脏障碍和尿障碍	22	0%	1	5%
急性肾损伤	11	5%	0	0%
慢性肾脏疾病	4	2%	0	0%
血尿症	3	1%	0	0%
皮肤障碍和皮下组织障碍	14	6%	4	20%
精神障碍	10	5%	0	0%
抑郁	5	2%	0	0%
眼病	8	4%	1	5%
良性肿瘤、恶性肿瘤和未指定的肿瘤	10	5%	0	5%
耳部障碍和迷路障碍	6	3%	1	5%
肝胆障碍	5	2%	1	5%
血液障碍和淋巴系统障碍	7	3%	0	0%
内分泌障碍	6	3%	0	0%
生殖系统障碍和乳腺障碍	1	0%	1	5%
产品问题	3	1%	0	0%
免疫系统障碍	2	1%	0	0%

注：发病率表示为患者数(%)。对于每个优选项，对患者计数一次，在每个SOC(系统器官类)中对患者计数一次，对具有任何不良事件的患者总数计数一次。包括在最终研究访视后30天内发作的事件。AE与补充(表格)中所示的AE相同。

[1531] 表36:治疗紧急的不良事件(在任何组中所有SOC和AE≥3%)

[1532]

终点	强代谢者/超快代谢者		弱代谢者	
	美托洛尔 (N=111)	布新洛尔 (N=105)	美托洛尔 (N=8)	布新洛尔 (N=12)
任何不良事件	80 (72.1%)	81 (77.1%)	7 (87.5%)	9 (75.0%)
心脏障碍	27 (24.3%)	29 (27.6%)	4 (50.0%)	3 (25.0%)
充血性心力衰竭	7 (6.3%)	4 (3.8%)	1 (12.5%)	2 (16.7%)
心动过缓	7 (6.3%)	5 (4.8%)	1 (12.5%)	0 (0.0%)
心力衰竭	3 (2.7%)	6 (5.7%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
窦性心动过缓	5 (4.5%)	0 (0.0%)	2 (25.0%)	0 (0.0%)
感染和侵袭	23 (20.7%)	30 (28.6%)	1 (12.5%)	4 (33.3%)
上呼吸道感染	5 (4.5%)	6 (5.7%)	0 (0.0%)	1 (8.3%)
鼻咽炎	3 (2.7%)	2 (1.9%)	0 (0.0%)	1 (8.3%)
支气管炎	4 (3.6%)	2 (1.9%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
流行性感冒	3 (2.7%)	3 (2.9%)	0 (0.0%)	1 (8.3%)
肺炎	0 (0.0%)	3 (2.9%)	1 (12.5%)	1 (8.3%)
肌肉骨骼障碍和结缔组织障碍	12 (10.8%)	23 (21.9%)	3 (37.5%)	4 (33.3%)
关节痛	1 (0.9%)	5 (4.8%)	2 (25.0%)	0 (0.0%)
肢体痛	1 (0.9%)	2 (1.9%)	1 (12.5%)	0 (0.0%)
背痛	4 (3.6%)	1 (1.0%)	0 (0.0%)	1 (8.3%)
胃肠道障碍	18 (16.2%)	23 (21.9%)	2 (25.0%)	2 (16.7%)
腹泻	6 (5.4%)	6 (5.7%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
恶心	4 (3.6%)	5 (4.8%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
便秘	0 (0.0%)	4 (3.8%)	1 (12.5%)	2 (16.7%)
神经系统障碍	20 (18.0%)	19 (18.1%)	1 (12.5%)	2 (16.7%)
头晕	4 (3.6%)	5 (4.8%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
头痛	5 (4.5%)	5 (4.8%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
晕厥	4 (3.6%)	3 (2.9%)	0 (0.0%)	1 (8.3%)
一般性障碍和施用部位状况	17 (15.3%)	13 (12.4%)	3 (37.5%)	1 (8.3%)
疲劳	5 (4.5%)	3 (2.9%)	0 (0.0%)	1 (8.3%)
周围性水肿	3 (2.7%)	2 (1.9%)	1 (12.5%)	0 (0.0%)
胸痛	3 (2.7%)	1 (1.0%)	1 (12.5%)	0 (0.0%)
血管性障碍	16 (14.4%)	14 (13.3%)	0 (0.0%)	1 (8.3%)
低血压	9 (8.1%)	10 (9.5%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
新陈代谢障碍和营养障碍	11 (9.9%)	12 (11.4%)	1 (12.5%)	1 (8.3%)
痛风	3 (2.7%)	2 (1.9%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
低镁血症	0 (0.0%)	3 (2.9%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
呼吸障碍、胸部障碍和纵膈障碍	10 (9.0%)	16 (15.2%)	0 (0.0%)	2 (16.7%)
呼吸困难	3 (2.7%)	2 (1.9%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
咳嗽	2 (1.8%)	3 (2.9%)	0 (0.0%)	1 (8.3%)
鼻衄	0 (0.0%)	3 (2.9%)	0 (0.0%)	1 (8.3%)
受伤、中毒和程序性并发症	13 (11.7%)	14 (13.3%)	2 (25.0%)	0 (0.0%)
撕裂	4 (3.6%)	1 (1.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
调查	9 (8.1%)	13 (12.4%)	0 (0.0%)	1 (8.3%)
肾脏障碍和尿障碍	11 (9.9%)	11 (10.5%)	0 (0.0%)	1 (8.3%)
急性肾损伤	5 (4.5%)	6 (5.7%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
慢性肾脏疾病	1 (0.9%)	3 (2.9%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
血尿症	0 (0.0%)	3 (2.9%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
皮肤障碍和皮下组织障碍	6 (5.4%)	7 (6.6%)	1 (12.5%)	3 (25.0%)
精神障碍	8 (7.2%)	2 (1.9%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
抑郁	4 (3.6%)	1 (1.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
眼病	4 (3.6%)	5 (4.8%)	0 (0.0%)	1 (8.3%)
良性肿瘤、恶性肿瘤和未指定的肿瘤	7 (6.3%)	3 (2.9%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
耳部障碍和迷路障碍	4 (3.6%)	2 (1.9%)	0 (0.0%)	1 (8.3%)
肝胆障碍	2 (1.8%)	3 (2.9%)	1 (12.5%)	0 (0.0%)
血液障碍和淋巴系统障碍	3 (2.7%)	4 (3.8%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
内分泌障碍	4 (3.6%)	2 (1.9%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
生殖系统障碍和乳腺障碍	1 (0.9%)	0 (0.0%)	1 (12.5%)	0 (0.0%)
产品问题	1 (0.9%)	2 (1.9%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
免疫系统障碍	1 (0.9%)	1 (1.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)

注：发病率表示为患者数(%)。对于每个优选项，对患者计数一次，在每个SOC(系统器官类)中对患者计数一次。  
对具有任何不良事件的患者总数计数一次。包括在最终研究访视后30天内发作的事件。AE与补充7.7(表格)中所示的AE相同。

[1533] 表37:混合的至第一次事件疗效终点的时间:具有LVEF<0.39或LVEF为0.39-0.49,且HF持续时间-AF持续时间>=-30天

终点	MET +PM (N=98)	BUC +PM (N=107)	MET -PM (N=90)	BUC -PM (N=97)
全因死亡率(ACM),24周随访期	3 (3%)	0 (0.0%)	2 (2%)	0 (0.0%)
ACM, 总随访期 (11.3 mos)	3 (3%)	2 (2%)	2 (2%)	2 (2%)
HF的住院治疗24周随访期	2 (2%)	4 (4%)	2 (2%)	4 (4%)
HF的住院治疗总随访期	10 (10%)	8 (7%)	9 (10%)	8 (8%)
ACM或HF的住院治疗24周随访期	5 (5%)	4 (4%)	4 (4%)	4 (4%)
ACM或HF的住院治疗总随访期	12 (12%)	9 (8%)	11 (12%)	9 (9%)
CV的住院治疗24周随访期	7 (7%)	6 (6%)	6 (7%)	6 (6%)
CV的住院治疗总随访期	14 (14%)	15 (14%)	13 (14%)	15 (15%)

[1535] 表38:布新洛尔(B)和美托洛尔(M)的血浆谷浓度和人β1-肾上腺素能受体(AR)占有率,CYP2D6基因变体在第4周随访时的功效

CYP2D6 变体 (N)	布新洛尔的血浆浓度, ng/ml		P值 相对于PM	美托洛尔的血浆浓度,ng/ml		P值 相对于PM	P vs Buc, w/in variant
	平均值	中位数		平均值	中位数		
EM (90B, 92M)	14.1 ± 37.2	3.4	<0.0001	73.9 ± 93.6	54.8	0.006	<0.0001
IM (6B, 8M)	18.5 ± 21.0	9.1	0.007	212.8 ± 154.4	205.5	0.37	0.005
PM (10B, 6M)	175.9 ± 142.4	137.8	-	130.7 ± 46.0	130.0	-	0.91

估计的布新洛尔 β<sub>1</sub>-AR 受体占有: EM/UM, 90.7%; IM, 92.2%; PM, 99.2%  
估计的美托洛尔 β<sub>1</sub>-AR 受体占有: EM/UM, 86.2; IM, 94.7%; PM, 91.6%

[1537] Δ 按国家的PI细分

[1538] 表39:在GENETIC-AF中细分的研究者和患者和国家

地区	美国 (N=43)	加拿大 (N=18)	匈牙利 (N=7)	波兰 (N=6)	塞尔维亚 (N=4)	荷兰 (N=4)	总计 (N=82)
研究者细分	EP	23 (53%)	12 (67%)	5 (71%)	1 (17%)	0 (0%)	41 (50%)
	HF	13 (30%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (17%)	0 (0%)	18 (22%)
	GC/I	6 (14%)	3 (17%)	0 (0%)	4 (66%)	3 (75%)	20 (24%)
	Intvn	1 (2%)	1 (11%)	1 (14%)	0 (0%)	1 (25%)	4 (5%)
	Crt Cr	0 (0%)	1 (6%)	1 (14%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (2%)
地区	美国 (N=127)	加拿大 (N=59)	匈牙利 (N=33)	波兰 (N=23)	塞尔维亚 (N=21)	荷兰 (N=4)	总计 (N=267)
患者细分	EP	77 (61%)	47 (80%)	26 (79%)	9 (39%)	0 (0%)	159 (60%)
	HF	32 (25%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (17%)	0 (0%)	36 (13%)
	GC/I	15 (12%)	9 (15%)	0 (0%)	10 (43%)	20 (95%)	58 (22%)
	Intvn	3 (2%)	2 (2%)	6 (18%)	0 (0%)	1 (5%)	12 (4%)
	Crt Cr	0 (0%)	1 (2%)	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (1%)

EP=电生理学家; HF=心力衰竭或HF/移植; GC/I=一般的心脏病学和/或成像;Intvn=介入;  
Crt Cr=重症监护

[1540] Δ 排除标准的患者数 (LVEF ≥ 0.39且DTRI < -30天)

[1541] 表40:被标准排除的患者 (LVEF ≥ 0.39和DTRI < -30天)

国家	整个群体	#剩余的	#排除的 (%)
全部	267	205	62 (23%)

美国	127	108	19 (15%)
加拿大	59	46	13 (22%)
匈牙利	33	13	20 (61%)
波兰	23	18	5 (22%)
塞尔维亚	21	1 7	4 (19%)
荷兰	4	3	1 (25%)

[1543] 表41:xTAG CYP2D6试剂盒v3等位基因和SNP

*基因型	通过xTAG CYP2D6试剂盒 v3检测的SNP	美国高加索人群体中的频率 <sup>4</sup>	非裔美国人群体中的频率 <sup>4</sup>	预计的酶活性
*1	无	37至40%	29至5%	正常的
*2	-1584>G, 1661G>C, 2850C>T, 4180G>C	26至33%	18至27%	正常的
*3	2549A>del	1%	0.2至0.6%	无
*4	100C>T, 1661G>C, 1846G>A, 4180G>C, 2850C>T	18至20%	6至9%	无
*5	deletion	2至4%	6至7%	无
*6	1707T>del, 4180G>C	1%	0.5%	无
*7	2935A>C	未知的	未知的	无
*8	1661G>C, 1758G>T, 2850C>T, 4180G>C	未知的	未知的	无
[1544] *9	2613delAGA	2至3%	0.3%	降低的
*10	100C>T, 1661G>C, 4180G>C	2至8%	0.3至0.4%	降低的
*11	883G>C, 1661G>C, 2850C>T, 4180G>C	未知的	未知的	无
*15	138insT	未知的	未知的	无
*17	1023C>T, 1661G>C, 2850C>T, 4180G>C	0.2至0.3%	15至26%	降低的
*29	1659G>A, 1661G>C, 2850C>T, 3183G>A, 4180G>C	未知的 <sup>5</sup>	未知的 <sup>5</sup>	降低的
*35	-1584C>G, 31G>A, 1661G>C, 2850C>T, 4180G>C	7.4% <sup>6</sup>	1% <sup>6</sup>	正常的
*41	1661G>C, 2850C>T, 2988G>A, 4180G>C	9% <sup>6</sup>	11% <sup>6</sup>	降低的
DUP	复制品			

[1545] 1. Tramadol Therapy and CYP2D6 Genotype. Medical Genetic Summaries (Internet). Cited 2017 October. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK31S9S0/>.

[1546] 2. Becquemont L (June 2009). Pharmacogenomics 10(6):961-9.

[1547] 3. xTAG CYP2D6 Kit v3 Package Insert

[1548] 4. Bradford LD. CYP2D6 allele frequency in European C Caucasians, Asians,

Africans and their descendants. *Pharmacogenomics* 2002;3(2):229-43.

[1549] 5. Wennerholm A, Johansson f. 等人. Characterization of the CYP2D6 '29 allele commonly present in a black Tanzanian population causing reduced catalytic activity. *Pharmacogenetics* 2001;11(5):417-427.

[1550] 6. Gaedigk A, Ryder DL. CYP2D6 poor metabolizer status can be ruled out by a single genotyping assay for the -1584G promoter polymorphism. *Clin Chem* 2003,49(6Pt 1):1008-11.

[1551] 参考文献

[1552] 在整个说明书中所引用的以下参考文献和出版物,在一定程度上以它们提供示例性的程序或其他细节作为对本文所阐述内容的补充,它们通过引用特别地并入本文。

[1553] 1. Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, Cushman M, Das SR, Deo R, de Ferranti SD, Floyd J, Fornage M, Gillespie C, Isasi CR, Jiménez MC, Jordan LC, Judd SE, Lackland D 等人. Heart disease and stroke statistics-2017 Update: A report from the American Heart Association. *Circulation*. 2017;135:e146-e603.

[1554] 2. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Vasan RS, Leip EP, Wolf PA, D'Agostino RB, Murabito JM, Kannel WB, Benjamin EJ. Temporal relations of atrial fibrillation and congestive heart failure and their joint influence on mortality: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2003;107:2920-25

[1555] 3. Aleong RG, Sauer WH, MD, Davis G, Bristow MR. New onset atrial fibrillation predicts heart failure progression. *Am J Med*. 2014;127:963-71.

[1556] 4. Kotecha D, Banerjee A, Lip GY. Increased stroke risk in atrial fibrillation patients with heart failure: does ejection fraction matter? *Stroke*. 2015;46:608-9.

[1557] 5. Kotecha D, Piccini JP. Atrial fibrillation in heart failure: what should we do? *Eur Heart J*. 2015;36:3250-7.

[1558] 6. Bardy GH, Lee K L, Mark DB, Poole J E, Packer DL, Boineau R, Domanski M, Troutman C, Anderson J, Johnson G, McNulty SE, Clapp-Channing N, Davidson-Ray LD, Fraulo ES, Fishbein DP, Luceri RM, Ip JH; Sudden Cardiac Death in Heart Failure Trial (SCD-HeFT) Investigators. Amiodarone or an implantable cardioverter-defibrillator for congestive heart failure. *N Engl J Med*. 2005;352:225-37

[1559] 7. Torp-Pedersen C, Metra M, Spark P, Lukas MA, Moullet C, Scherhag A, Komajda M, Cleland JG, Remme W, Di Lenarda A, Swedberg K, Poole-Wilson PA; COMET Investigators. *J Cardiac Fail*. 2005;13:340-5.

[1560] 8. Torp-Pedersen C, Møller M, Bloch-Thomsen PE, Køber L, Sandøe E, Egstrup K, Agner E, Carlsen J, Videbaek J, Marchant B, Camm AJ. Dofetilide in patients with congestive heart failure and left ventricular dysfunction. Danish Investigations of Arrhythmia and Mortality on Dofetilide Study Group. *N Engl J Med*. 1999;341:857-65.



- [1561] 9. Tikosyn prescribing information
- [1562] 10. Banchs JE, Wolbrette DL, Samii SM, Penny-Peterson ED, Patel PP, Young SK, Gonzalez MD, Naccarelli GV. Efficacy and safety of dofetilide in patients with atrial fibrillation and atrial flutter. *J Interv Card Electrophysiol*. 2008; 23:111-5
- [1563] 11. Nasr IA, Bouzamondo A, Hulot JS, Dubourg O, Le Heuzey JY, Lechat P. Prevention of atrial fibrillation onset by beta-blocker treatment in heart failure: a meta-analysis. *Eur Heart J*. 2007; 28:457-462.
- [1564] 12. van Veldhuisen DJ, Aass H, El Allaf D, Dunselman PH, Gullestad L, Halinen M 等人. Presence and development of atrial fibrillation in chronic heart failure. Experiences from the MERIT-HF Study. *Eur J Heart Fail*. 2006; 8(5):539-46
- [1565] 13. Aleong RG, Sauer WH, Davis G, Murphy GA, PhD, Port JD, PhD, Abraham WT, Liggett SB, Bristow MR. Prevention of atrial fibrillation by bucindolol is dependent on the beta-1389 Arg/Gly adrenergic receptor polymorphism. *JACC Heart Fail*. 2013; 1:338-44.
- [1566] 14. BEST Investigators. A trial of the beta-adrenergic blocker bucindolol in patients with advanced heart failure. *New Engl J Med*. 2001; 344:1659-67.
- [1567] 15. MERIT-HF Investigators. Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF). *Lancet*. 1999; 353:2001-7.
- [1568] 16. Mason DA, Moore JD, Green SA, Liggett SB. A gain-of-function polymorphism in a G-protein coupling domain of the human beta1-adrenergic receptor. *J Biol Chem*. 1999; 274:12670-12674.
- [1569] 17. Liggett SB, Mialet-Perez J, Thaneemit-Chen S, Weber SA, Greene SM, Hodne D, Nelson B, Morrison J, Domanski MJ, Abraham WT, Anderson JL, Carlquist JF, Krause-Steinrauf HJ, Lazzeroni LC, Port JD, Lavori PW, Bristow MR. A polymorphism within a highly conserved beta1-adrenergic receptor motif alters beta-blocker response in multiple models and human heart failure. *Proc Natl Acad Sci*. 2006; 103:11288-11293.
- [1570] 18. Sandilands AJ, O'Shaughnessy KM, Brown MJ. Greater inotropic and cyclic AMP responses evoked by noradrenaline through Arg389 beta1-adrenoceptors versus Gly389 beta1-adrenoceptors in isolated human atrial myocardium. *Br J Pharmacol*. 2003; 138:386-392.
- [1571] 19. O'Connor CM, Fiuzat M, Carson PE, Anand I, Plehn JF, Gottlieb SS, Silver MA, Lindenfeld J, Miller AB, White M, Walsh R, Nelson PB, Medway AM, Davis G, Robertson AD, Port JD, Carr J, Murphy GA, Lazzeroni LC, Abraham WT, Liggett SB, Bristow MR. Combinatorial pharmacogenetic interactions of bucindolol and beta1, alpha

2C adrenergic receptor polymorphisms. *PLoS One* 2012;7:e44324

[1572] 20. Mialet Perez J, Rathz DA, Petrashevskaya NN, Hahn HS, Wagoner LE, Schwartz A, Dorn GW, Liggett SB. Beta1-adrenergic receptor polymorphisms confer differential function and predisposition to heart failure. *Nat Med.* 2003;9:1300-5

[1573] 21. Bristow MR, Abraham WT, Yoshikawa T, White M, Hattler BG, Crisman TS, Lowes BD, Robertson AD, Larrabee P, Gilbert EM. Second- and third-generation beta-blocking drugs in chronic heart failure. *Cardiovasc Drugs Ther.* 1997;11:291-96.

[1574] 22. Bristow MR, Krause-Steinrauf H, Nuzzo R, Liang Cheng-Seng, Lindenfeld J, Lowes BD, Hattler B, Abraham WT, Olson L, Krueger S, Thaneemit-Chen S, Hare JM, Domanski MJ, Eichhorn EJ, Lavori P, Zelis R. Effect of Baseline or changes in adrenergic activity on clinical outcomes in the beta-blocker evaluation of survival trial (BEST). *Circulation.* 2004;110:1437-42.

[1575] 23. Aleong RG, Sauer WH, Robertson AD, Liggett SB, Bristow MR. Adrenergic receptor polymorphisms and prevention of ventricular arrhythmias with bucindolol in patients with chronic heart failure. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2013;6:137-43.

[1576] 24. Kao DP, Davis G, MS, Aleong R, O'Connor CM, Mona Fiuzat M, Carson PE, Anand IS, Plehn JF, Gottlieb SS, Silver MA, Lindenfeld J, Miller AB, White M, Murphy GA, Sauer W, MD, Bristow MR. Effect of bucindolol on heart failure outcomes and heart rate response in patients with reduced ejection fraction heart failure and atrial fibrillation. *Eur J Heart Fail.* 2013;15:324-33.

[1577] 25. White HL, de Boer RA, Maqbool A, Greenwood D, van Veldhuisen DJ, Cuthbert R, Ball SG, Hall AS, Balmforth AJ. An evaluation of the beta-1 adrenergic receptor Arg389Gly polymorphism in individuals with heart failure: a MERIT-HF sub-study. *Eur J Heart Fail.* 2003;5:463-468.

[1578] 26. Sehnert AJ, Daniels SE, Elashoff M, Wingrove JA, Burrow CR, Horne B, Muhlestein JB, Donahue M, Liggett SB, Anderson JL, Kraus WE. Lack of association between adrenergic receptor genotypes and survival in heart failure patients treated with carvedilol or metoprolol. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52:644-651.

[1579] 27. Cresci S, Kelly RJ, Cappola TP 等人. Clinical and genetic modifiers of long-term survival in heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54:432-44.

[1580] 28. Kotecha D, Holmes J, Krum H, Altman DG, Manzano L, Cleland JG, Lip GY, Coats AJ, Andersson B, Kirchhof P, von Lueder TG, Wedel H, Rosano G, Shibata MC, Rigby A, Flather MD; Beta-Blockers in Heart Failure Collaborative Group. Efficacy of  $\beta$  blockers in patients with heart failure plus atrial fibrillation: an individual-patient data meta-analysis. *Lancet.* 2014;384:2235-43.

[1581] 29. Bristow MR, Murphy GA, Krause-Steinrauf H 等人. An alpha2C-adrenergic

receptor polymorphism alters the norepinephrine-lowering effects and therapeutic response of the beta-blocker bucindolol in chronic heart failure. *Circ Heart Fail*.2010;3:21-8.

[1582] 30.GENETIC-AF Clinical Trial (BUC-CLIN-303), [ClinicalTrials.gov](http://ClinicalTrials.gov)

[1583] 31.Piccini JP,Connolly SJ,Abraham WT,Healey JS,Steinberg BA,Al-Khalidi HR,Dignacco P,van Velduisen DJ,Sauer WH,Dufton C,Marshall DA,Aleong RG,Davis GW,Clark RL,Emery LL,Bristow MR. A Genotype-directed comparative Effectiveness Trial of bucindolol and Toprol-XL for prevention of symptomatic Atrial Fibrillation/Atrial Flutter in patients with heart failure: Rationale and design of the GENETIC-AF Trial. *Am Heart J*, in press.

[1584] 32.Bristow MR,Kao DP,Breathett KK,Altman NL,MD,Gorcsan J 3<sup>rd</sup>,Gill EA,MD,Lowes BD,Gilbert EM,Quaife RA,Mann DL. Structural and functional phenotyping of the failing heart: Is the left ventricular ejection fraction obsolete? *JACC-Heart Fail*.2017;5:772-81.

[1585] 33.Ponikowski P,Voors AA,Anker SD 等人.2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J*.2016;37:2129-200.

[1586] 34.Sarkar S,Koehler J,Crossley GH,Tang WH,Abraham WT,Warman EN,Whellan DJ. Burden of atrial fibrillation and poor rate control detected by continuous monitoring and the risk for heart failure hospitalization *Am Heart J*.2012;164:616-24.

[1587] 35.Bretz F,Schmidli H,König F,Racine A,Maurrer W. Confirmatory seamless phase II/III clinical trials with hypotheses selection at interim: general concepts *Biom J*. 2006;48:623-34.

[1588] 36.GENETIC-AF DSMB Charter Version 20 and appended White Paper, Submitted to IND 118934, Serial Amendment 037 on October 16, 2015.

[1589] 37.Chen YHJ,DeMets DL and Lan KKG. Increasing the sample size when the unblinded interim result is promising. *Stat Med*.2004;23:1023-38.

[1590] 38.Bunch TJ,May HT,Bair TL,Johnson DL,Weiss JP,Crandall BG,Osborn JS,Anderson JL,Muhlestein JB,Lappe DL,Day JD. Increasing time between first diagnosis of atrial fibrillation and catheter ablation adversely affects long-term outcomes. *Heart Rhythm*.2013;10:1257-62.

[1591] 39.Hussein AA,Saliba WI,Barakat A,Bassiouny M,Chamsi-Pasha M,Al-Bawardy R,Hakim A,Tarakji K,Baranowski B,Cantillon D,Dresing T,Tchou P,Martin DO,Varma N,Bhargava M,Callahan T,Niebauer M,Kanj M,Chung M,Natale A,Lindsay BD,Wazni OM. Radiofrequency Ablation of persistent atrial fibrillation: diagnosis-to-ablation time, markers of pathways of atrial remodeling, and outcomes. *Circ Arrhythm Electrophysiol*.2016;9:e003669.

[1592] 40.Arya A,Silberbauer J,Teichman SL,Milner P,Sulke N,Camm AJ. A

preliminary assessment of the effects of ATI-2042 in subjects with paroxysmal atrial fibrillation using implanted pacemaker methodology. *Europace*. 2009 Apr; 11(4):458-64.

[1593] 41. Werner Jung, Vlada Zvereva, Andreas Rillig, Birge Roggenbuck, Gholam Sadeghzadeh, Johannes Kohler. How to use implantable loop recorders in clinical trials and hybrid therapy. *J Interv Card Electrophysiol*. 2011 Dec; 32(3):227-232.

[1594] 42. Chen-Scarabelli, Scarabelli TM, Ellenbogen KA, Halperin JL. Device-detected atrial fibrillation: what to do with asymptomatic patients. *J Am Coll Cardiol*. 2015 Jan 27; 65(3):281-94.

[1595] 43. Turakhia MP, Ziegler PD, Schmitt SK, Chang Y, Fan J, Than CT, Keung EK, Singer DE. Atrial Fibrillation Burden and Short-Term Risk of Stroke: Case-Crossover Analysis of Continuously Recorded Heart Rhythm From Cardiac Electronic Implanted Devices. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2015 Oct; 8(5):1040-7.

[1596] 44. Eduardo N. Warman, PhD, Andrea Grammatico, PhD, Luigi Padeletti, MD. Sample size estimates for atrial fibrillation endpoints. *Heart Rhythm* (2004) 1, B58-B63.

[1597] 45. Kaplan RM, Ziegler PD, Koehler J, Glotzer TV, Passman RS. Atrial fibrillation variability on long-term monitoring of implantable cardiac rhythm management devices. *Clin (Cardiol)*. 2017; 40:1044-48.

[1598] 46. Yoshizawa A, Yoshikawa T, Nakamura I, Satoh T, Moritani K, Suzuki M, Baba A, Iwanaga S, Mitamura H, Ogawa S. Brain natriuretic peptide response is heterogeneous during beta-blocker therapy for congestive heart failure. *J Card Fail*. 2004; 10:310-5.

[1599] 47. Frantz RP, Lowes BD, Grayburn PA, White M, Krause-Steinrauf H, Krishnan V, Uyeda L, Burnett JC; BEST Neurohumoral Substudy Investigators. Baseline and serial neurohormones in patients with congestive heart failure treated with and without bucindolol: results of the neurohumoral substudy of the Beta-Blocker Evaluation of Survival Study (BEST). *J Card Fail*. 2007; 13:437-44.

[1600] 48. Lowes BD, Gilbert EM, Abraham WT, Minobe WA, Larrabee P, Ferguson D, Wolfel EE, Lindenfeld J, Tsvetkova T, Robertson AD, Quaipe RA, Bristow MR. Myocardial gene expression in dilated cardiomyopathy treated with beta-blocking agents. *New Engl J Med*. 2002; 346:1357-65.

[1601] 49. Kao DP, Lowes BD, Gilbert EM, Minobe W, Epperson LE, Meyer LK, Ferguson DA, Volkman AK, Zolty R, Borg CD, Quaipe RA, Bristow MR. Therapeutic molecular phenotype of beta-blocker associated reverse remodeling in nonischemic dilated cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet*. 2015; 8:270-83.

- [1602] 50.Ohta Y,Shimada T,YoShitomi H,Inoue S,Murakami Y,Shimizu H,Nakamura K,Ohta T,Kato H,Ishibashi Y.Drop in plasma brain natriuretic peptide levels after successful direct current cardioversion in chronic atrial fibrillation.Can J Cardiol.2001;17:415-20.
- [1603] 51.Tsuchida K,Tanabe K.Influence of paroxysmal atrial fibrillation attack on brain natriuretic peptide secretion.J Cardiol.2004;44:1-11.
- [1604] 52.Yanagi sawa S,Inden Y,Kato H,Fujii A,Mizutani Y,Ito T,Kamikubo Y,Kanzaki Y,Hirai M,Murohara T.Decrease in B-Type Natriuretic Peptide Levels and Successful Catheter Ablation for Atrial Fibrillation in Patients with Heart Failure.Pacing Clin Electrophysiol.2016;39:225-34
- [1605] 53.Rossi A,Enriquez-Sarano M,Burnett JC Jr,Lerman A,Abel MD,Seward JB.Natriuretic peptide levels in atrialfibrillation:a prospective hormonal and Doppler-echocardiographic study.J Am Coll Cardiol.2000;35:1256-62.
- [1606] 54.Massie BM,Cleland JG,Armstrong PW,Horowitz JD,Packer M,Poole-Wilson PA,Ryden L.Regional differences in the characteristics and treatment of patients participating in an international heart failure trial.The Assessment of Treatment with Lisinopril and Survival (ATLAS) Trial Investigators.J Card Fail.1998;4:3-8.
- [1607] 55.Pitt B,Pfeffer MA,Assmann SF,Boineau R,Anand IS,Claggett B,Clausell N,Desai AS,Diaz R,Fleg JL,Gordeev I,Harty B,Heitner JF,Kenwood CT,Lewis EF,O'Meara E,Probstfield JL,Shaburishvili T,Shah SJ,Solomon SD,Sweitzer NK,Yang S,McKinlay SM;TOPCAT Investigators.N Engl J Med. 2014;370(15):1383-92
- [1608] 56.Pfeffer MA,Claggett B,Assmann SF,Boineau R,Anand IS,Clausell N,Desai AS,Diaz R,Fleg JL,Gordeev I,Heitner JF,Lewis EF,O'Meara E,Rouleau JL,Probstfield JL,Shaburishvili T,Shah SJ,Solomon SD,Sweitzer NK,McKinlay SM,Pitt B.Regional variation in patients and outcomes in the Treatment of Preserved Cardiac Function Heart Failure With an Aldosterone Antagonist (TOPCAT) trial.Circulation.2015;131:34-42.
- [1609] 57.Bristow MR,Enciso JS,Gersh BJ,Grady C,Rice MM,Singh S,Greenberg BH.Detection and management of geographic disparities in the TOPCAT trial: Lessons learned and derivative recommendations.J Am Coll Cardiol Basic Transl Sci.2016;1:180-89.
- [1610] 58.Wedel H,DeMets D,Deedwania P等人.Challenges of subgroup analyses in multinational clinical trials:experiences from the MERIT-HF trial.Am Heart J.2001;142:502-11.
- [1611] 59.O'Connor CM,Fiuzat M,Caron MF,Davis G,Karl Swedberg K,Peter E,Carson PE,Koch B,Bristow MR.Influence of global region on outcomes in large heart failure  $\beta$ -Blocker trials.J Am Coll Cardiol 58:915-922,2011.
- [1612] 60.Yusuf S,Wittes J.Interpreting Geographic Variations in Results of

Randomized, Controlled Trials. *N Engl J Med*. 2016;375:2263-71.

[1613] 61. Pocock S, Calvo G, Marrugat J, Prasad K, Tavazzi L, Wallentin L, Zannad F, Alonso Garcia A. International differences in treatment effect: do they really exist and why? *Eur Heart J*. 2013;34:1846-52

[1614] 62. Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP): points to consider on adjustment for baseline covariates. *Stat Med* 2004;23(5):701-9.

[1615] 63. FDA Complete Response Letter to NDA 22-313, dated May 29, 2009.

[1616] 64. Bristow MR. Beta-adrenergic receptor blockade in chronic heart failure. *Circulation*. 2000;101:558-69.

[1617] 65. Toprol XL package insert. **Södertälje**, Sweden: Astra-Zeneca: 2012.

[1618] 66. Bucindolol Hydrochloride Clinical Study Report Phase I Study S1457 "Pharmacokinetics of Orally and Intravenously Administered Bucindolol" dated 30 June 1998.

[1619] 67. Burstein B, Nattel S. Atrial fibrosis: mechanisms and clinical relevance in atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51:802-9

[1620] 68. Corradi D. Atrial fibrillation from the pathologist's perspective. *Cardiovasc Pathol*. 2014;23:71-84.

[1621] 69. Aleong RG, Kao DP, Lowes BD, Minobe W, Gilbert EM, Bristow MR. Ventricular myocardial gene expression in HF rEF patients with atrial fibrillation (AF) vs. no AF, and changes in response to beta-blockade. *Circulation*. 2017;136Suppl 1A17316.

[1622] 70. Braunwald E, Bristow MR. *Circulation*. 2000;102(20Suppl 4):IV14-23.

[1623] 71. Wakili R, Voigt N, **Kääb** S, Dobrev D, Nattel S. Recent advances in the molecular pathophysiology of atrial fibrillation. *J Clin Invest*. 2011;121:2955-68

[1624] 72. Dzeshka MS, Lip GY, Snezhitskiy V, Shantsila E. Cardiac fibrosis in patients with atrial fibrillation: Mechanisms and clinical implications. *J Am Coll Cardiol*. 2015;66:943-59.

[1625] 73. Abhayaratna WP, Seward JB, Appleton CP, Douglas PS, Oh JK, Tajik AJ, Tsang TS. Left atrial size: physiologic determinants and clinical applications. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47:2357-63.

[1626] 74. Lowes BD, Minobe WA, Abraham WT, Rizeq MN, Bohlmeier TJ, Quaipe RA, Roden RL, Dutcher DL, Robertson AD, Voelkel NF, Badesch DB, Groves BM, Gilbert EM, Bristow MR. Changes in gene expression in the intact human heart: down-regulation of alpha-myosin heavy chain in hypertrophied, failing ventricular myocardium. *J Clin Invest*. 1997;100:2315-24.

[1627] 75. Abraham WT, Fisher WG, Smith AL, Delurgio DB, Leon AR, Loh E, Kocovic DZ, Packer M, Clavell AL, Hayes DL, Ellestad M, Tmp RJ, Underwood J, Pickering F, Truex C, McAtee P, Messenger J; MIRACLE Study Group. Multicenter InSync Randomized Clinical Evaluation. Cardiac resynchronization in chronic heart

failure.NEnglJMed.2002;346:1845-53.

[1628] 76.Bristow MR,Saxon LA,Feldman AM,Mei C,MD,Anderson SA,DeMets DL.Lessons learned and insights gained in the design,analysis and outcomes ofthe COMPANION trial.JACC-Heart Fail.2016;4:521-35.

[1629] 77.Bristow MR,O'Connell JB,Gilbert EM,French WJ,Leatherman G,Kantrowitz NE,Orie J,Smucker ML,Marshall G,Kelly P,Deitchman D,Anderson JL, for the Bucindolol Investigators.Dose-response of chronic beta-blocker treatment in heart failure from either idiopathic dilated or ischemic cardiomyopathy.Circulation.1994;89:1632-42.

[1630] 78.Hein L,Altman JD,Kobilka BK.Two functionally distinct alpha2-adrenergic receptors regulate sympathetic neurotransmission.Nature.1999;402:181-84.

[1631] 79.Taylor MR,Sun AY,Davis G,Fiuzat M,Liggett SB,Bristow MR.Race, genetic variation,and therapeutic response disparities in heartfailure.JACCHeart Fail.2004;2:561-72.

[1632] 80.Small KM,Forbes SL,Rahman RF,Bridges KM,Liggett SB.A four amino acid deletion polymorphism in the third intracellular loop of the human  $\alpha_2c$ -adrenergic receptor confers impaired coupling to multiple effectors.J Biol Chem.2000;275:23059-64.

[1633] 81.Bristow MR,Murphy GA,Krause-SteinraufH,Anderson JL,Carlquist JF,Thaneemit-Chen S,Krishnan V,Abraham WT,Lowes BD,Port JD,Davis GW,Lazzeroni LC,Robertson AD,Lavori PW,and Liggett SB.An  $\alpha_2C$ -adrenergic receptor polymorphism alters the norepinephrine lowering effects and therapeutic response of the beta blocker bucindolol in chronic heartfailure.Circ HeartFail.2010;3:21-8.

[1634] 82.Cohn JN,Pfeffer MA,Rouleau J,Sharpe N,Swedberg K,Straub M,Wiltse C,Wright TJ;MOXCON Investigators.Adverse mortality effect of central sympathetic inhibition with sustained-release moxonidine in patients with heartfailure(MOXCON).Eur JHeart Fail.2003;5:659-67.

[1635] 83.Rienstra M,Damman K,Mulder BA,Van Gelder IC,McMurray JJ, Van Veldhuisen DJ.Beta-blockers and outcome in heartfailure and atrialfibrillation : a meta-analysis.JACC HeartFail.2013;1(1):21-8.

[1636] 84.Bristow MR,Aleong RG.Treatment of the heartfailure patient with atrial fibrillation:A major unmet need.JACC HeartFail.2013;1:29-30.

[1637] 85Xenotech hepatic microsme in vitro bucindolol metabolism study (Parkinson Sr Au)

[1638] 86Eichhorn EJ,Bristow MR.Medical therapy can improve the biologic properties of the chronically failing heart:A new era in the treatment of heart failureCirculation.94:2285-96.



- [1639] 87. Anderson JL, Gilbert EM, O'Connell JB, Renlund D, Yanowitz F, Murray M, RoSkelley M, Mealey P, Volkman K, Deitchman D, Bristow MR. Long-term (2 year) beneficial effects of beta-adrenergic blockade with bucindolol in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 1991;17:1373-81.
- [1640] 88. Healey JS, Connolly SJ, Gold MR, Israel CW, Van Gelder IC, Capucci A, Lau CP, Fain E, Yang S, Bailleul C, Morillo CA, Carlson M, Themeles E, Kaufman ES, Hohnloser SH; ASSERT Investigators. Subclinical atrial fibrillation and the risk of stroke. *N Engl J Med*. 2012 Jan 12;366(2):120-9.
- [1641] 89. Trulock KM, Narayan SM, Piccini JP. Rhythm control in heart failure patients with atrial fibrillation: contemporary challenges including the role of ablation. *J Am Coll Cardiol* 2014;64:710-21.
- [1642] 90. Olsson LG, Swedberg K, Ducharme A 等人. Atrial fibrillation and risk of clinical events in chronic heart failure with and without left ventricular systolic dysfunction: results from the Candesartan in Heartfailure-Assessment of Reduction in Mortality and morbidity (CHARM) program. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47:1997-2004.
- [1643] 91. Turagam MK, Garg J, Whang W 等人. Catheter Ablation of Atrial Fibrillation in Patients With Heart Failure: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Aun Intern Med*. 2019;170(1):41-50..
- [1644] 92. Marrouche NF, Brachmann J, Andresen D 等人. Catheter Ablation for Atrial Fibrillation with Heart Failure. *N Engl J Med* 2018;378:417-427.
- [1645] 93. Nergårdh AK, Rosenqvist M, Nordlander R, Frick M. Maintenance of sinus rhythm with metoprolol CR initiated before cardioversion and repeated cardioversion of atrial fibrillation: a randomized double-blind placebo-controlled study. *Eur Heart J* 2007;28:1351-7.
- [1646] 94. Spiegelhalter DJ, Freedman LS, Blackburn PR. Monitoring clinical trials: conditional or predictive power? *Control Clin Trials*. 1986;7(1):8-17.
- [1647] 95. Berry SM, Spinelli W, Littman GS, Liang JZ, Fardipour P, Berry DA, Lewis RJ, Krsms M. A Bayesian dose-finding trial with adaptive dose expansion to flexibly assess efficacy and safety of an investigational drug. *Clin Trials*. 2010;7:121-35.
- [1648] 96. Steinhubl SR, Waalen J, Edwards AM 等人. Effect of a Home-Based Wearable Continuous ECG Monitoring Patch on Detection of Undiagnosed Atrial Fibrillation: The mSToPS Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2018;320:146-155.
- [1649] 97. Tufakhia MP, Desai M, Hedlin H 等人. Rationale and design of a large-scale, app-based study to identify cardiac arrhythmias using a smartwatch: The Apple Heart Study. *Am Heart J* 2019;207:66-75.
- [1650] 98. Wilson FP, Parikh CR. Translational Methods in Nephrology: Individual Treatment Effect Modeling. *Am Soc Nephrol*. 2018;29:2615-18.

- [1651] 99.Toso E,Blandino A,Sardi D,Battaglia A,Garberoglio L,Miceli S,Azzaro G,Capello AL,Gaita F.Electrical cardioversion of persistent atrial fibrillation:acute and long-term results stratified according to arrhythmia duration.Pacing Clin Electrophysiol 2012;35:1126-34.
- [1652] 100.Li D,Fareh S,Leung TK,Nattel S.Promotion of atrial fibrillation by heart failure in dogs:atrial remodeling of a different sort.Circulation 1999;100:87-95.
- [1653] 101.GENETIC-AF Phase 3 Statistical Analysis Plan submitted to FDA on March 30,2017
- [1654] 102.DSMB Charter Version 20 submitted to FDA on October 16,2015
- [1655] 103.DSMB Charter White Paper submitted to FDA on October 16,2015
- [1656] 104.Davis BR,Kostis JB,Simpson LM,Black HR,Cushman WC,Einhorn PT等人。and the ALLHAT Collaborative Research Group.Heart failure with preserved and reduced left ventricular ejection fraction in the antihypertensive and lipid-lowering treatment to prevent heart attack trial.Circulation.2008;118:2259-67.
- [1657] 105.Gupta DK,Shah AM,Castagno D,Takeuchi M,Loehr LR,Fox ER,Butler KR,Mosley TH,Kitzman DW,Solomon SD.Heart failure with preserved ejection fraction in African Americans:The ARIC(Atherosclerosis Risk In Communities)study.JACC Heart Fail.2013Apr;1(2):156-63.
- [1658] 106.Butler J等人.Developing Therapies for Heart Failure with Preserved Ejection Fraction:Current State and Future Directions.JACC Heart Fail.2014Apr.;2(2):97-112.
- [1659] 107.Butler J等人.Exploring New Endpoints for Patients with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction.Circ Heart Fail.2016;9:e00358.DOI:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.116.003358
- [1660] 108.Kotecha,D等人,Heart Failure With Preserved Ejection Fraction and Atrial Fibrillation.JACC 2016.68(20):2217-28.
- [1661] 109.Yancy,CW等人,2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure.2013,DOI:10.1161/CIR.0b013e31829e8776.
- [1662] 110.Kirchhof,P等人,2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS.Eur Heart J.2016.37:2893-62.
- [1663] Sara Goodwin,John D.McPherson and W.Richard McCombie,Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies,17 Nat Revs.Genetics 333(2016).
- [1664] Camilla L.C.Ip等人,MinION Analysis and Reference Consortium:Phase 1 data release and analysis[version 1;referees:2approved],F1000Research.com 1 (Oct.15,2015), (f1000researchdata.s3.amazonaws.com/manuscripts/7757/69f3a63b-

b808-447d-a1ca-f4548ce9fc57\_7201\_-\_Camilla\_Ip.pdf?doi=10.12688/f1000research.7201.1)

[1665] Jeffrey M.Perkel,Peter A.Fung,2016 Next-Gen Sequencing Buyer's Guide, Biocompare.com(Aug.30,2016), (biocompare.com/190681-2016-NGS-Buyer-s-Guide/)

[1666] Oxford Nanopore Technologies,Aboutus,Nanoporetech.com, (nanoporetech.com/about-us) .

[1667] Daniel R.Garalde等人,Highly parallel direct RNA sequencing on an array of nanopores,BioRxiv.org (Aug.12,2016) (biorxiv.org/content/biorxiv/early/2016/08/12/068809.full.pdf) 。

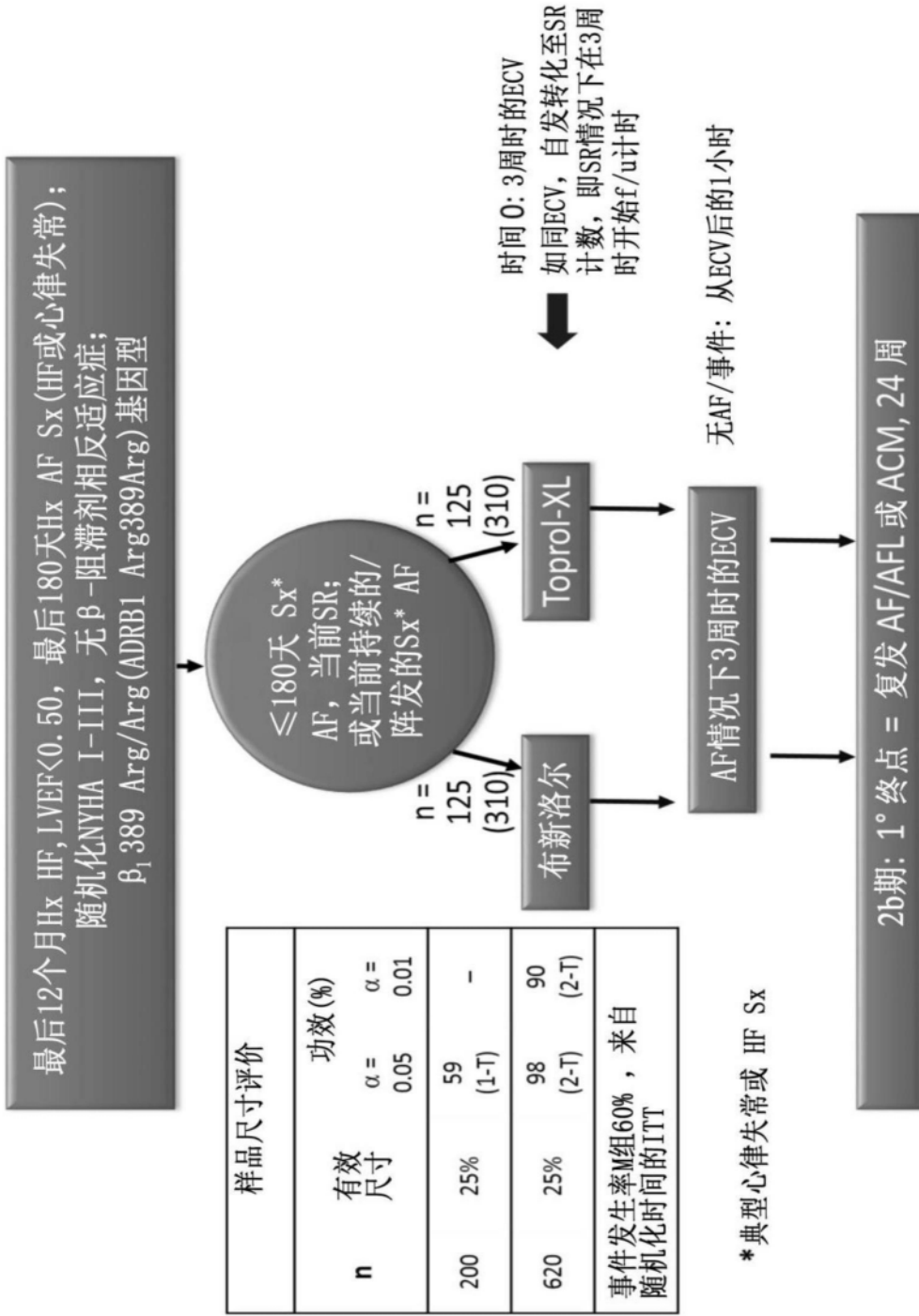


图1

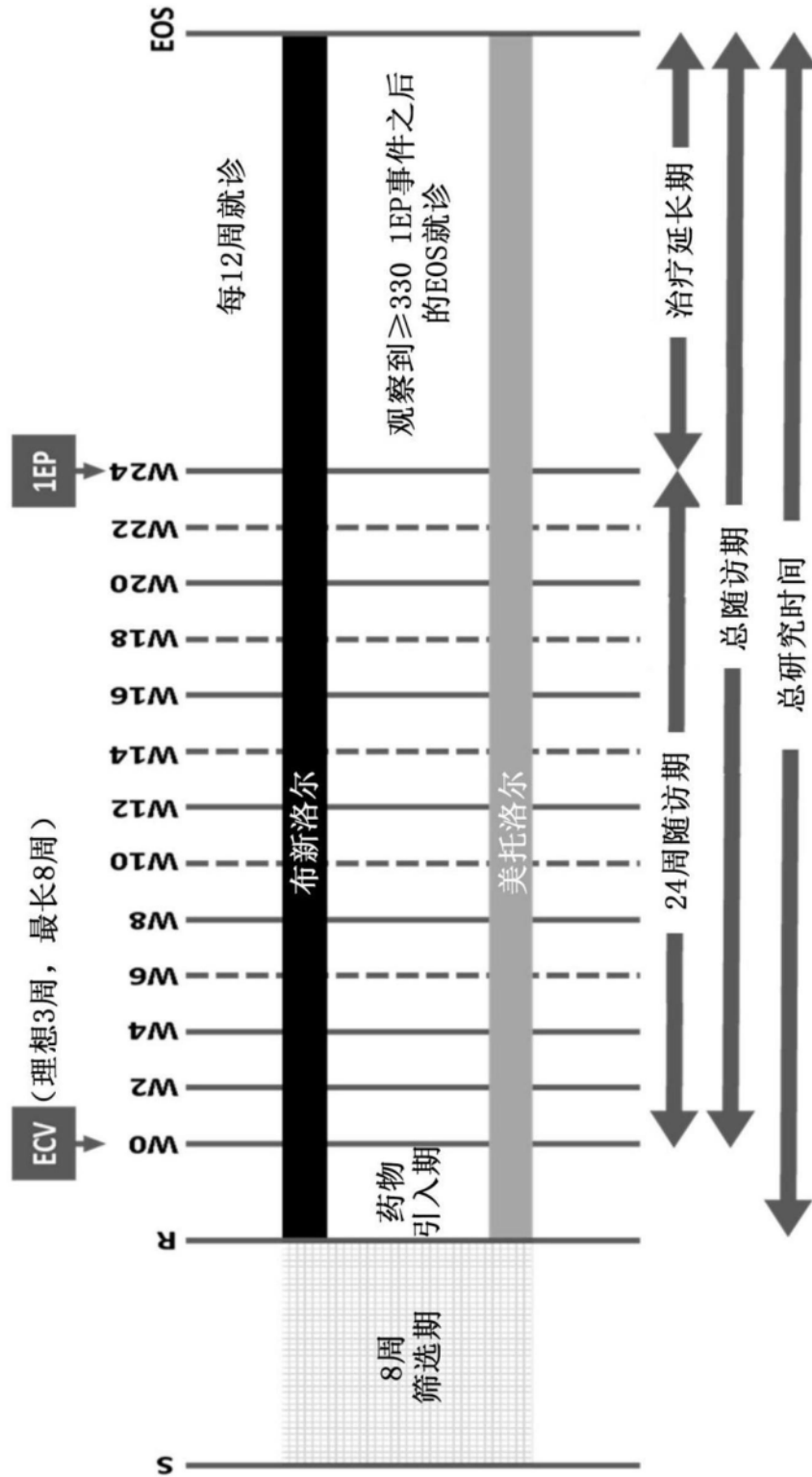


图2

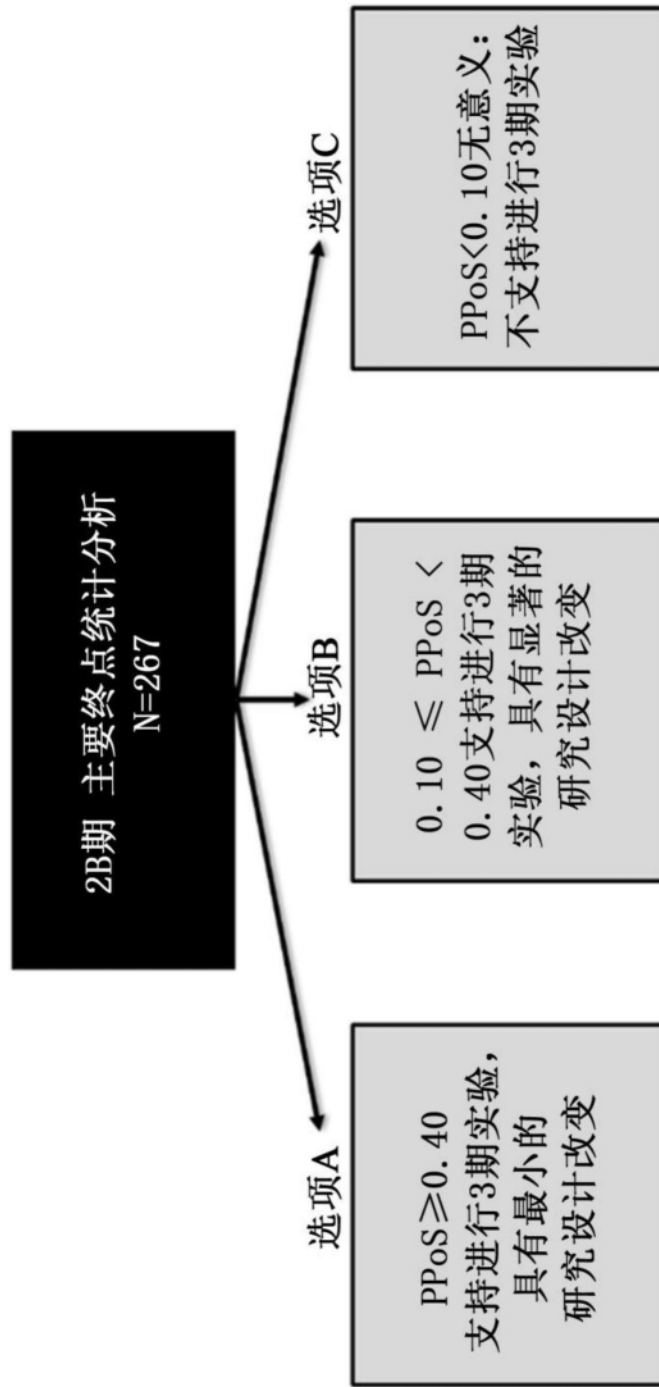


图3

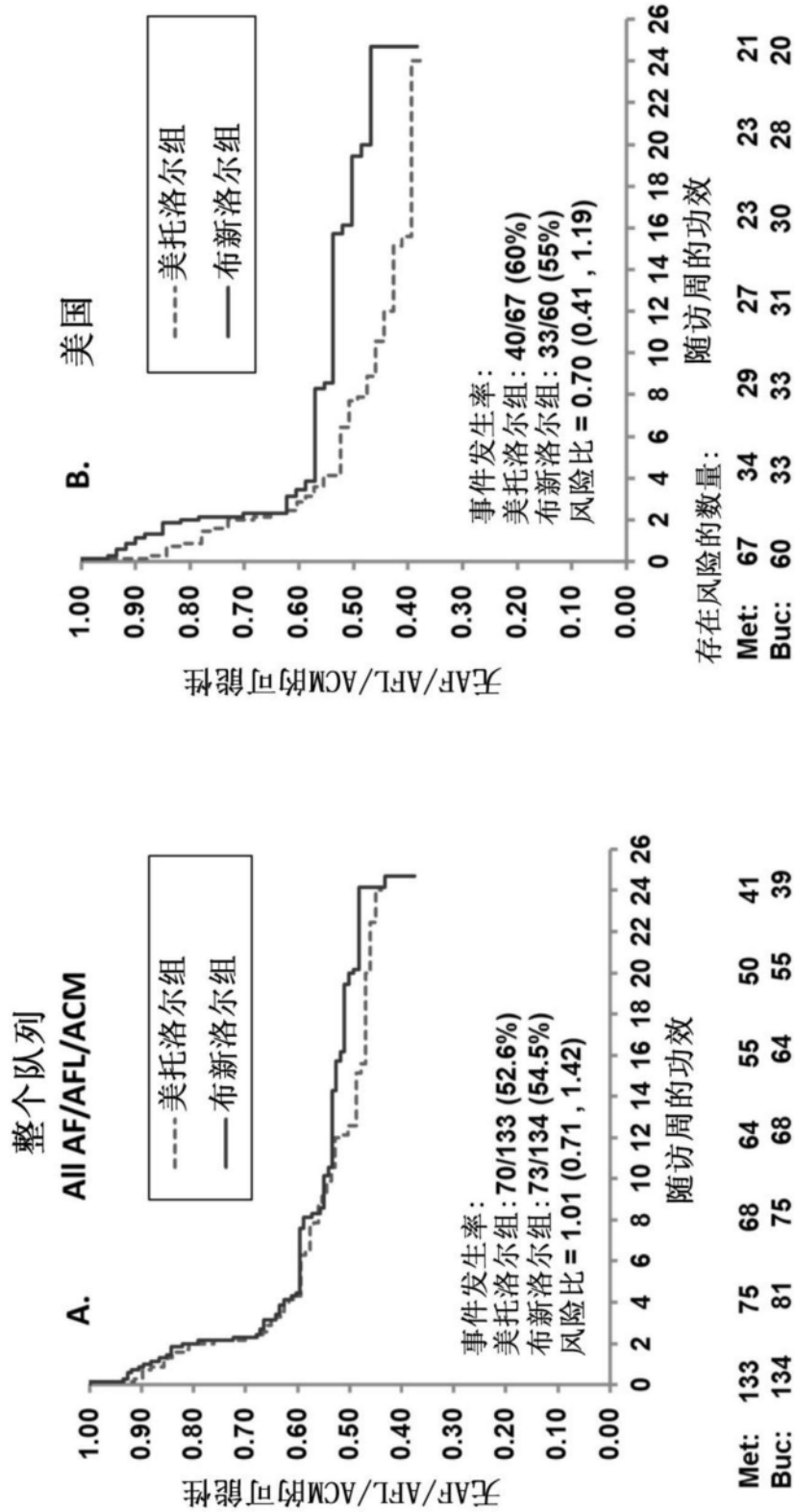


图4A和4B



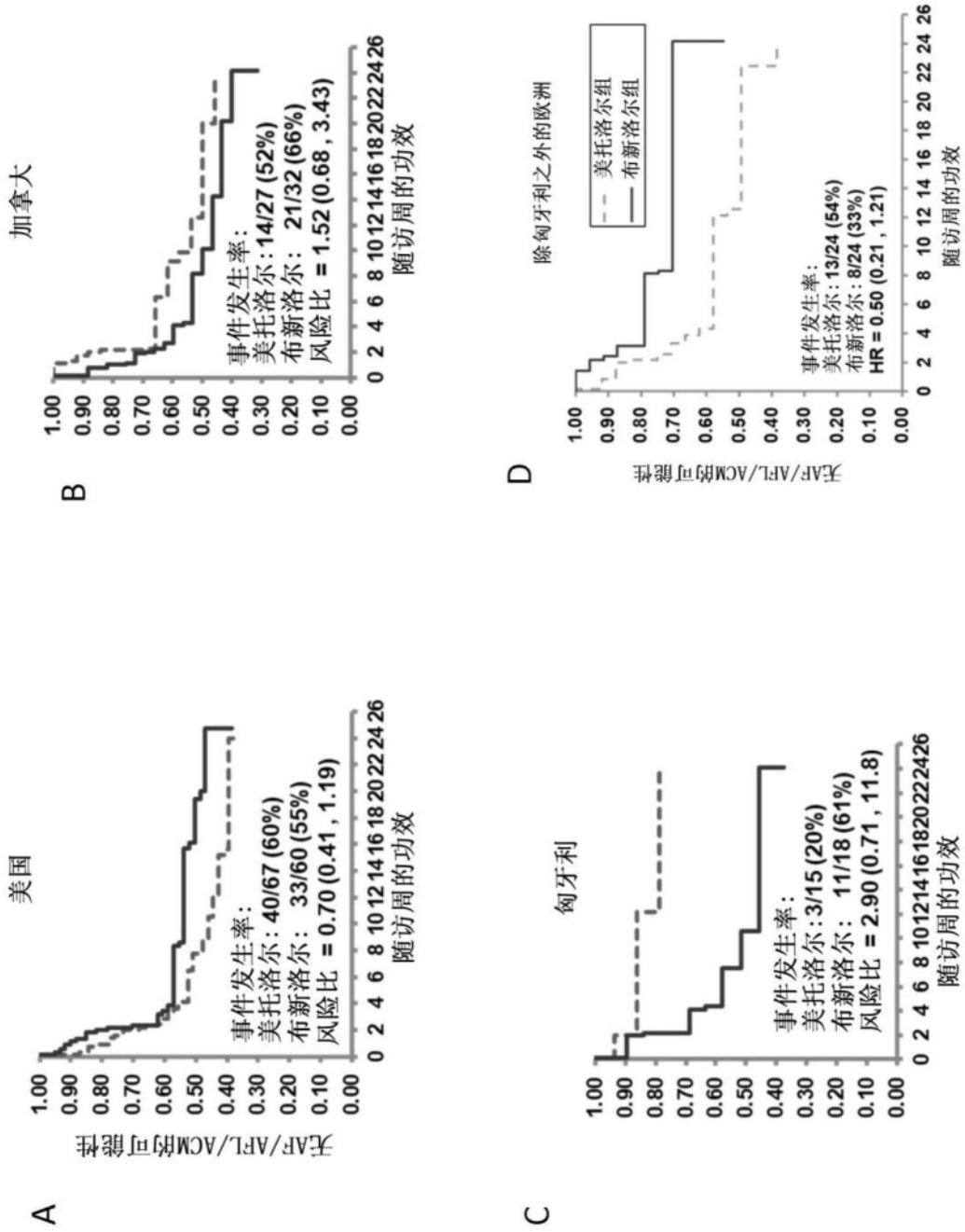


图5A-5D

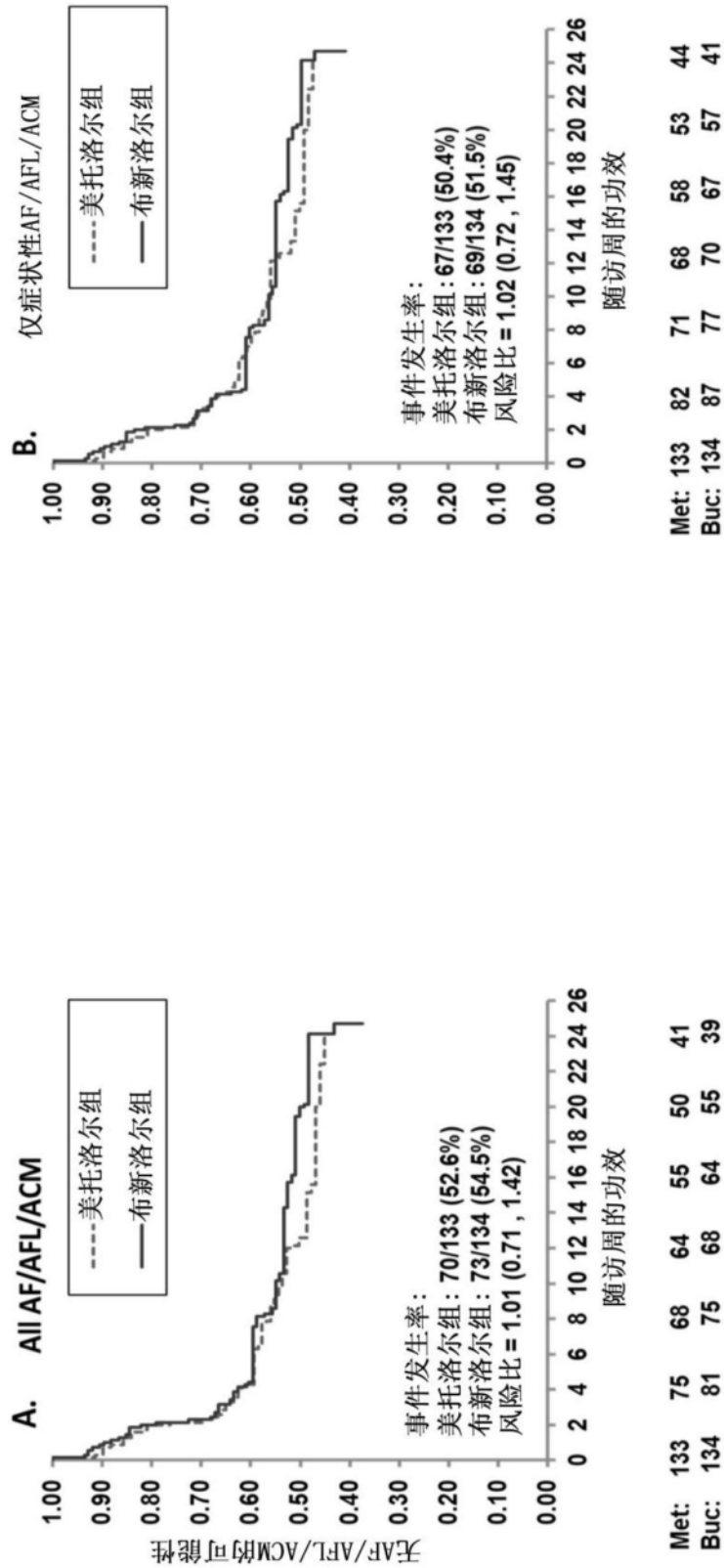


图6A和6B

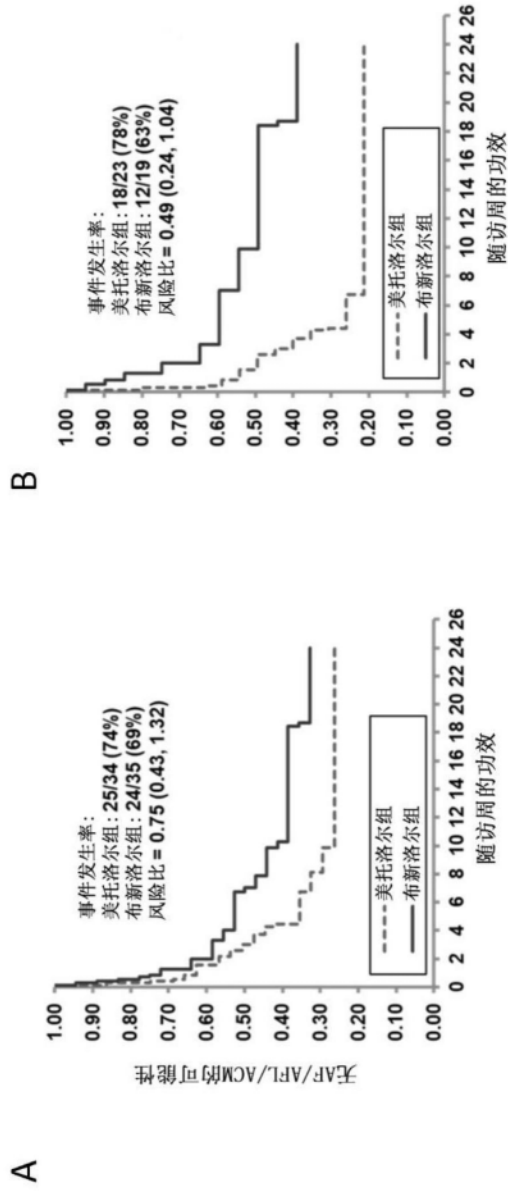


图7A和7B

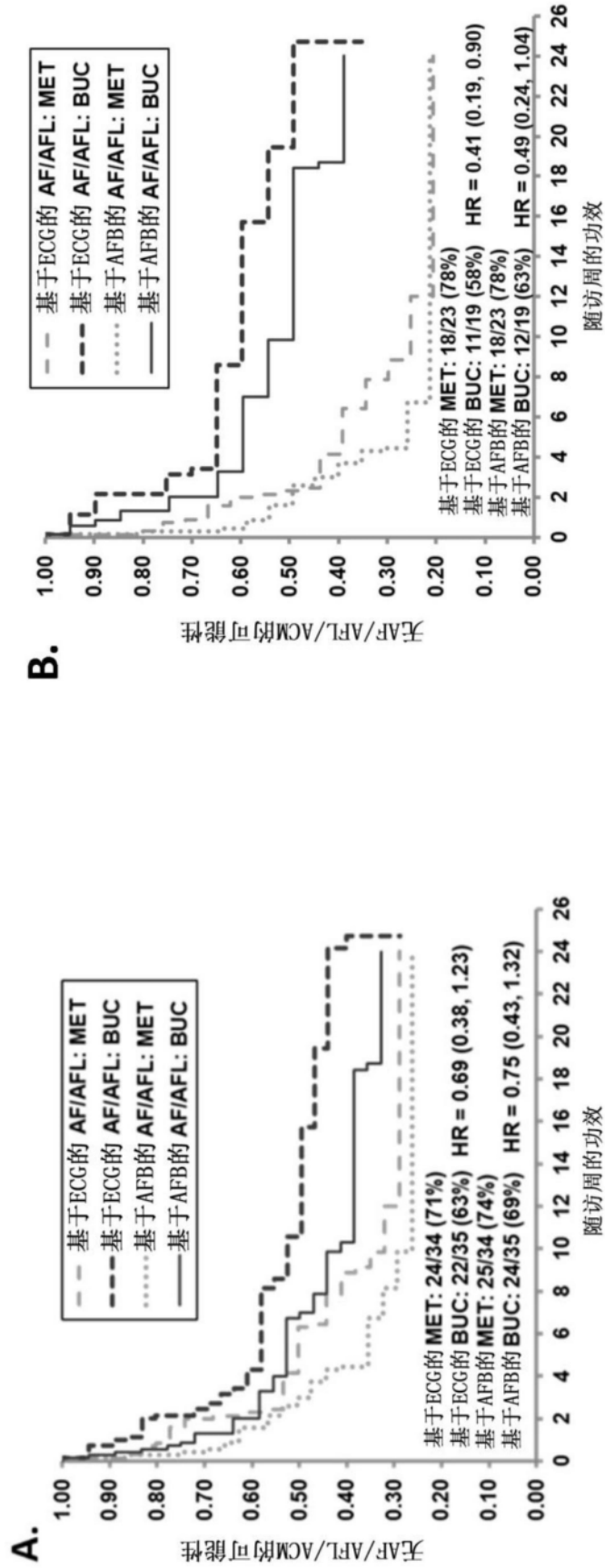


图8A和8B

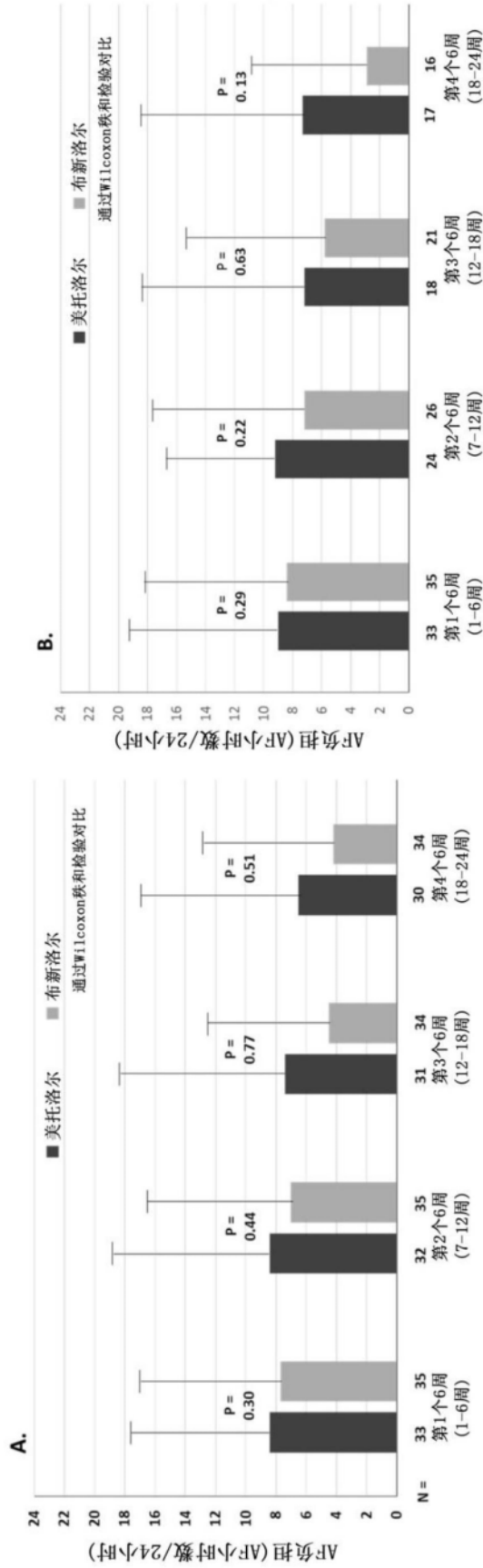


图9A和9B

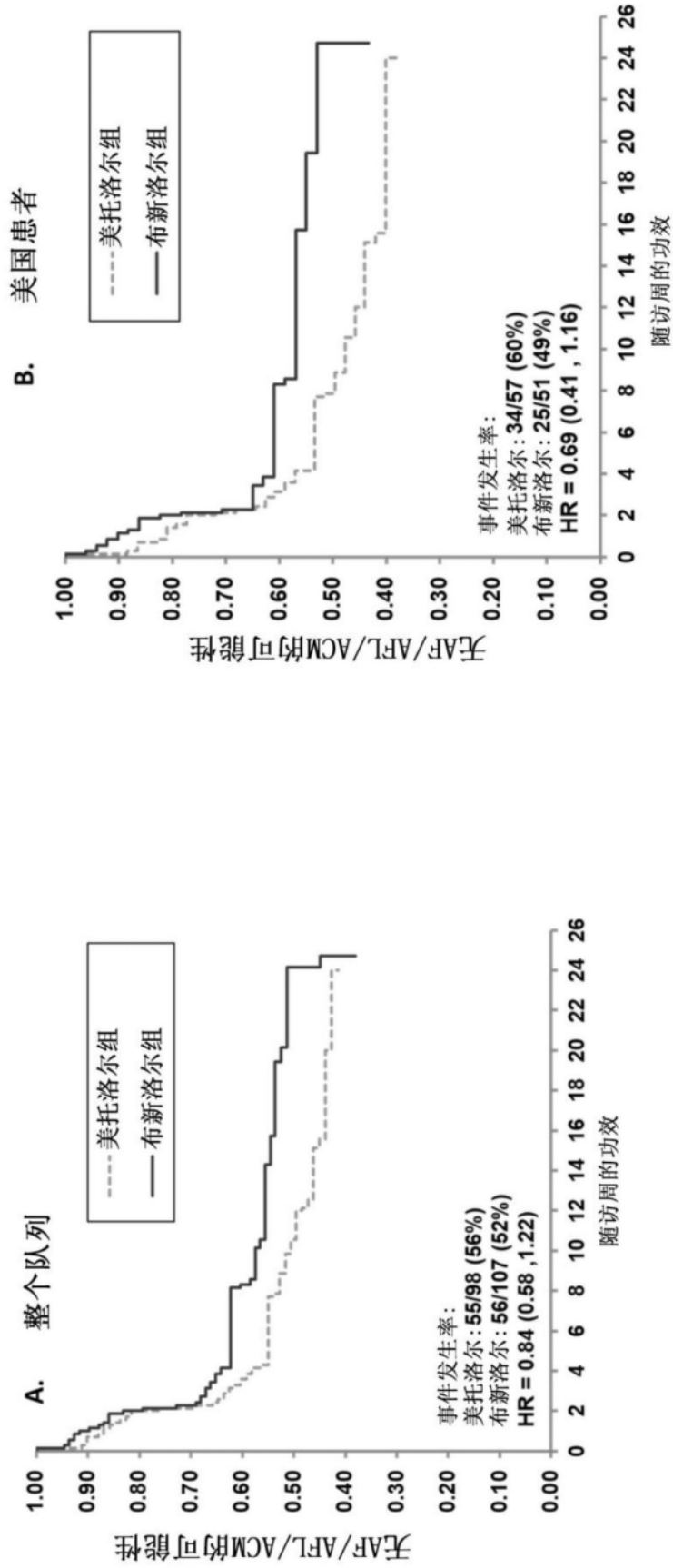


图10A和10B

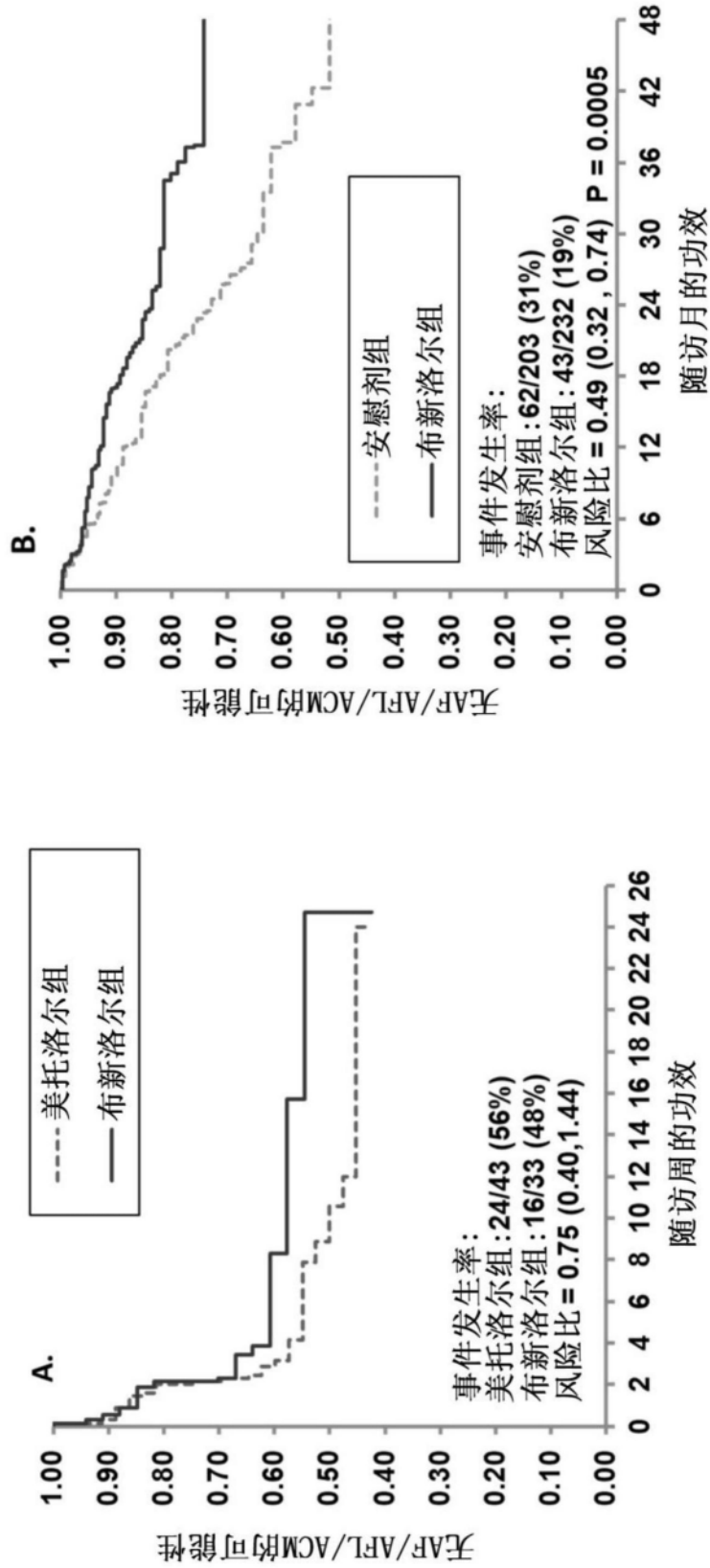


图11A和11B

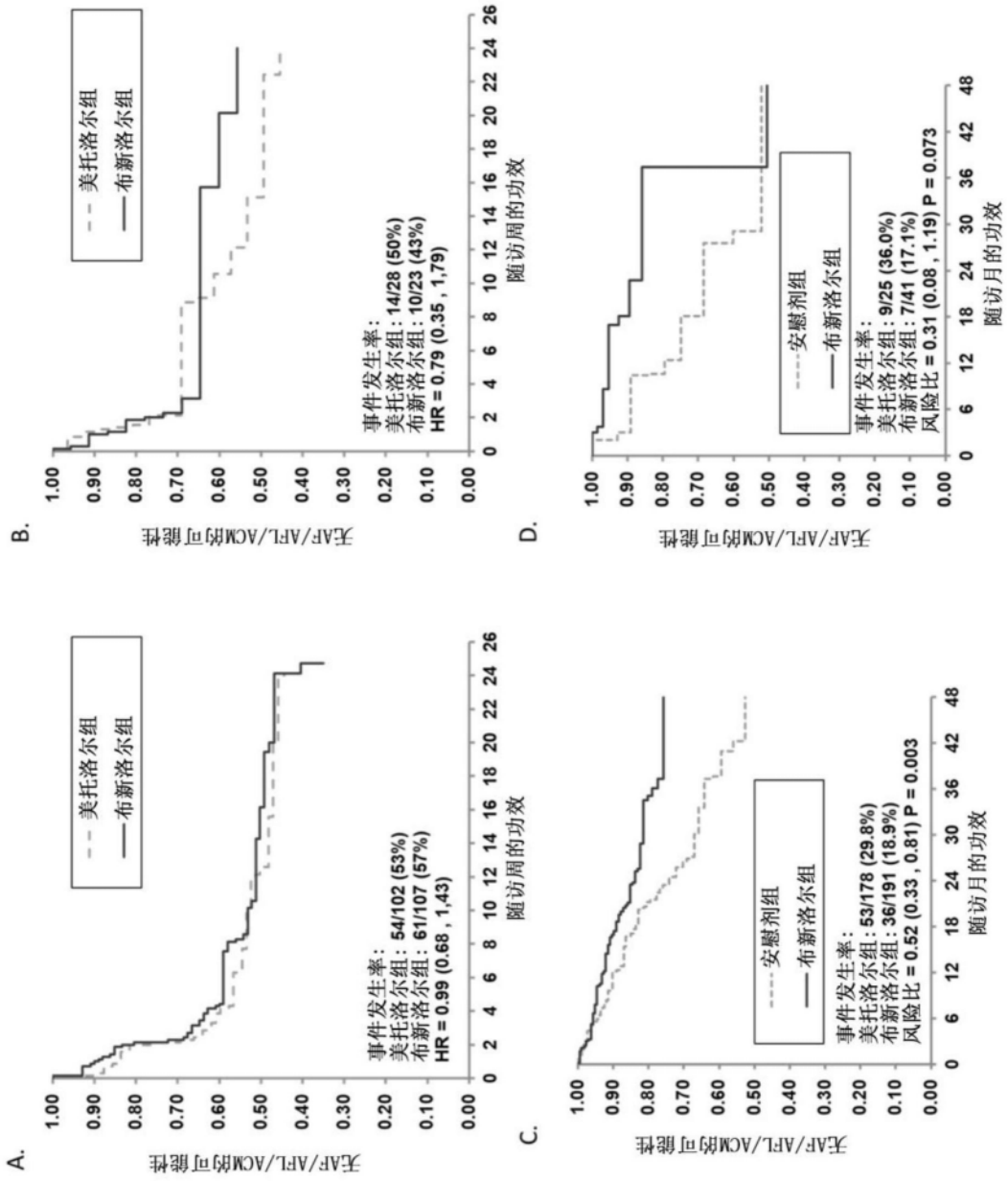


图12A-12D



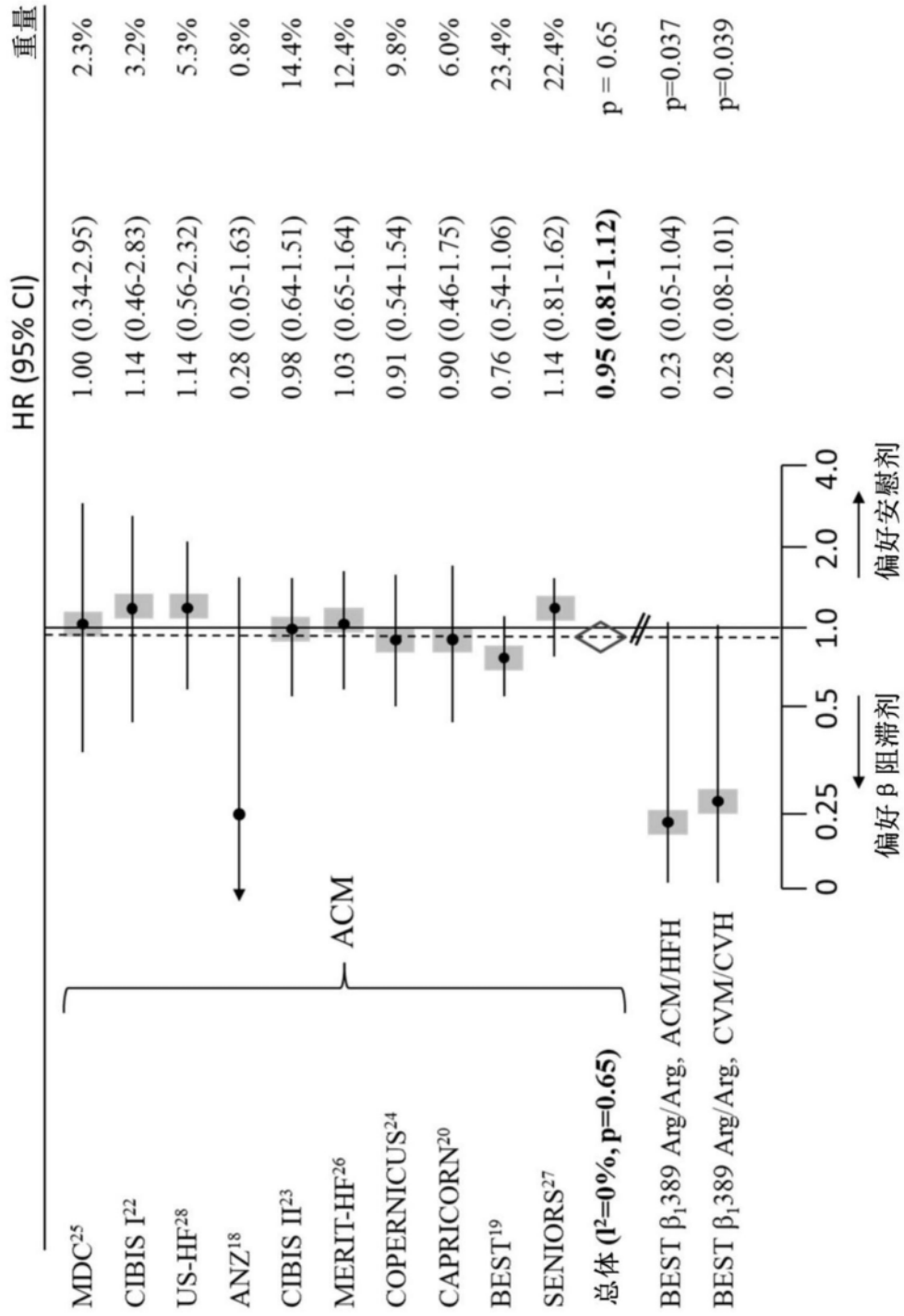


图13

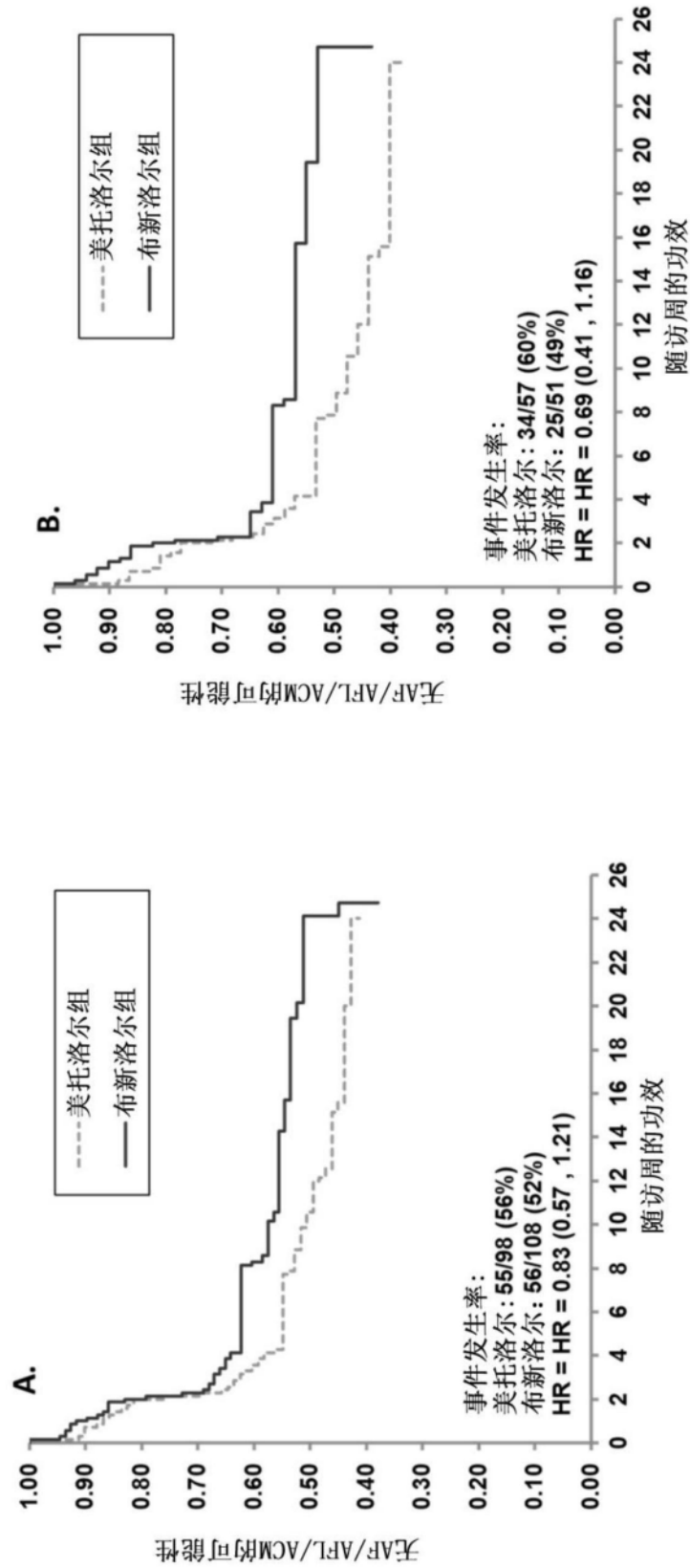


图14A和14B

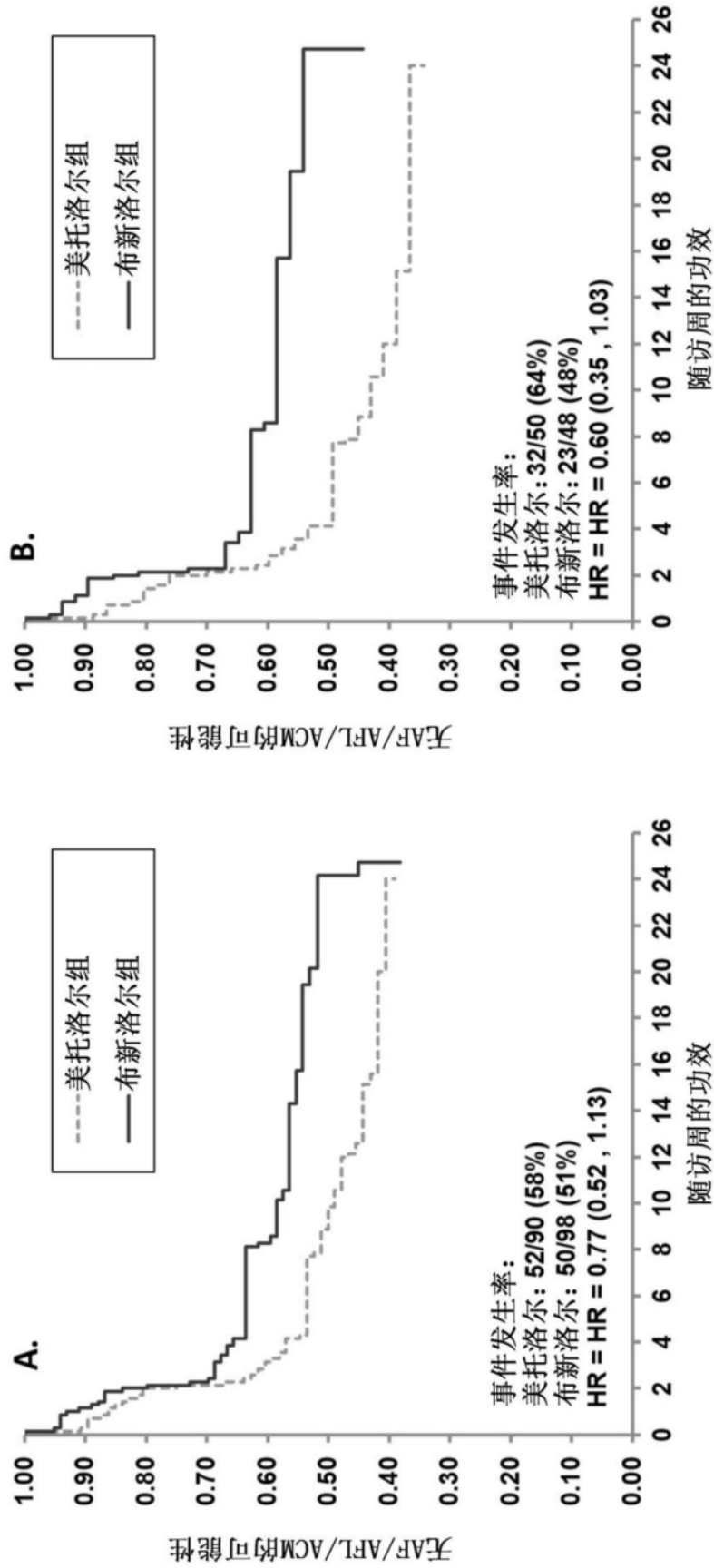


图15A和15B

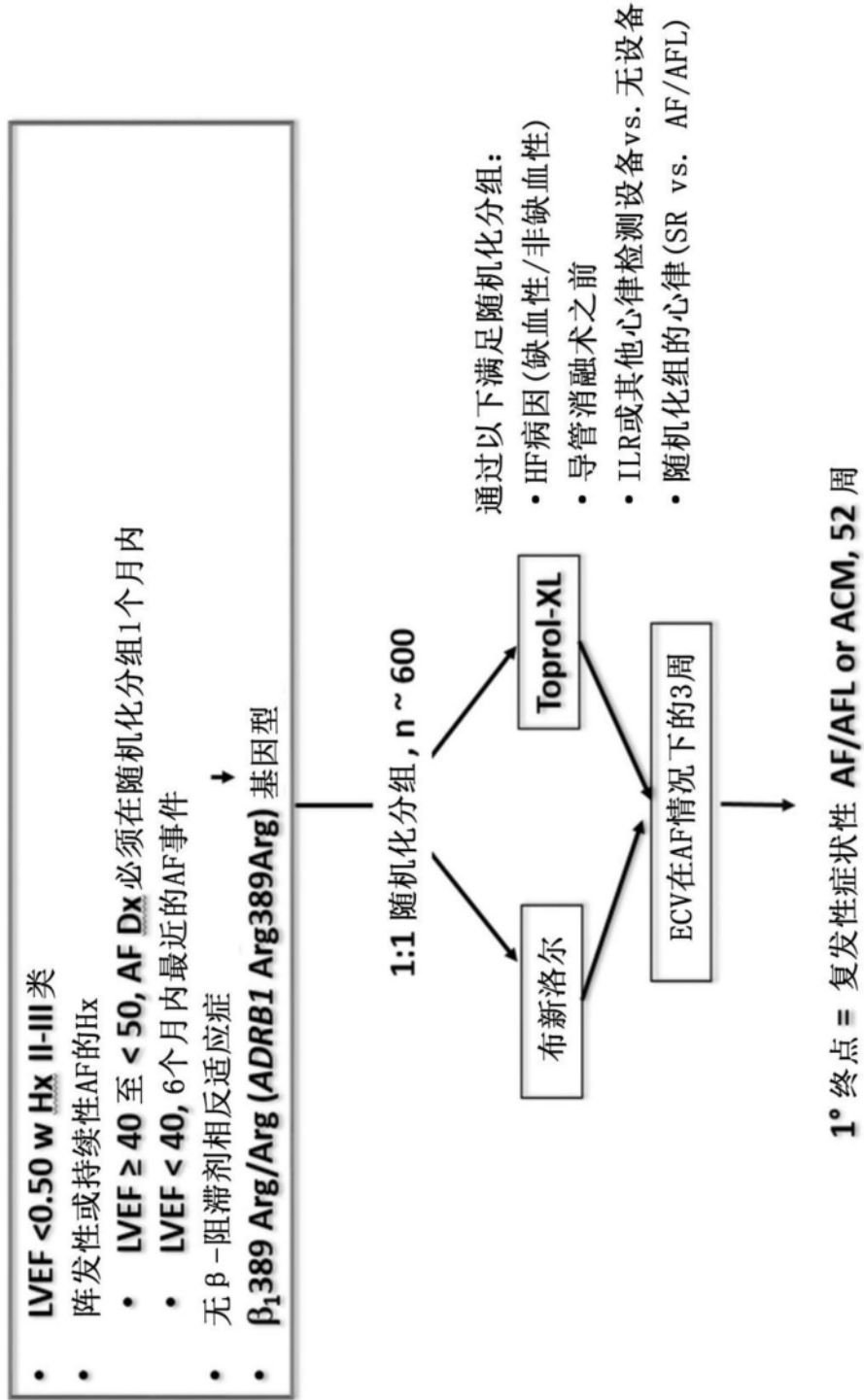


图16

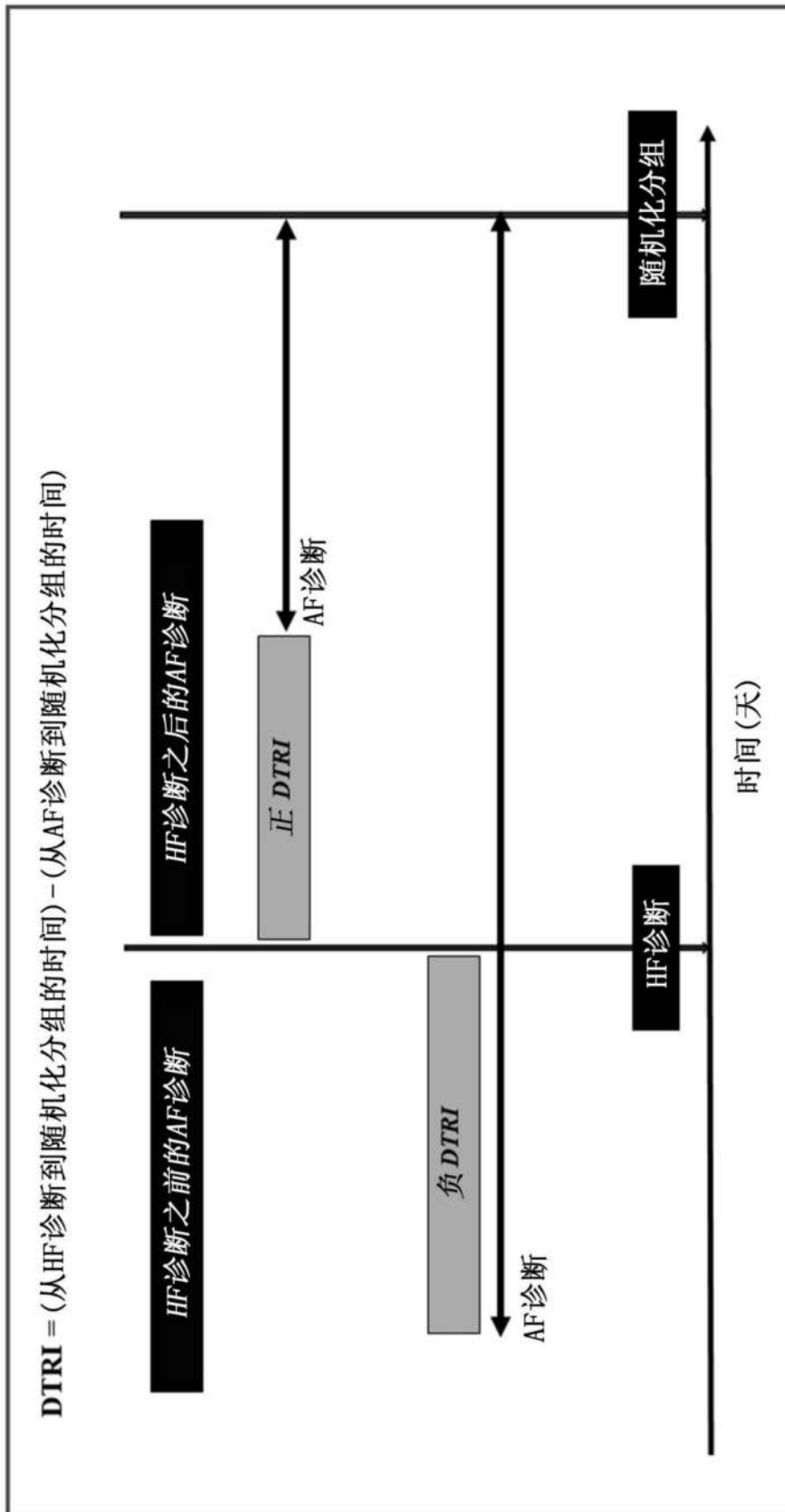


图17

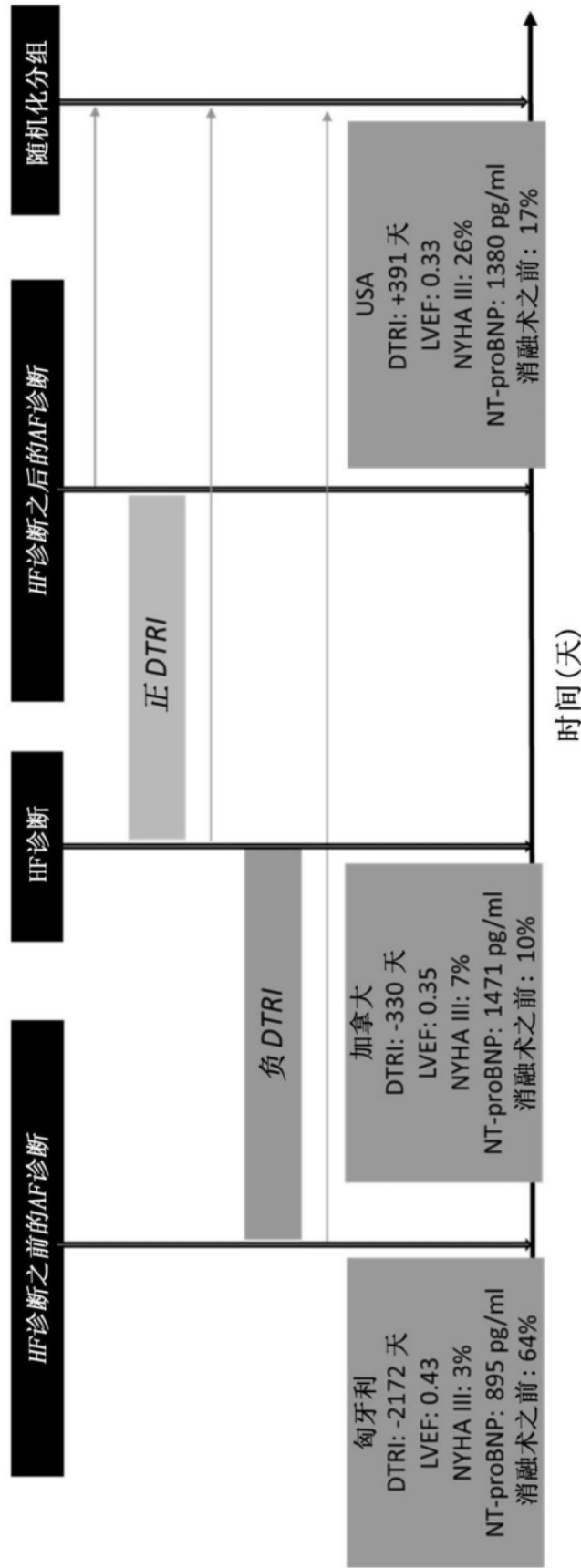


图18



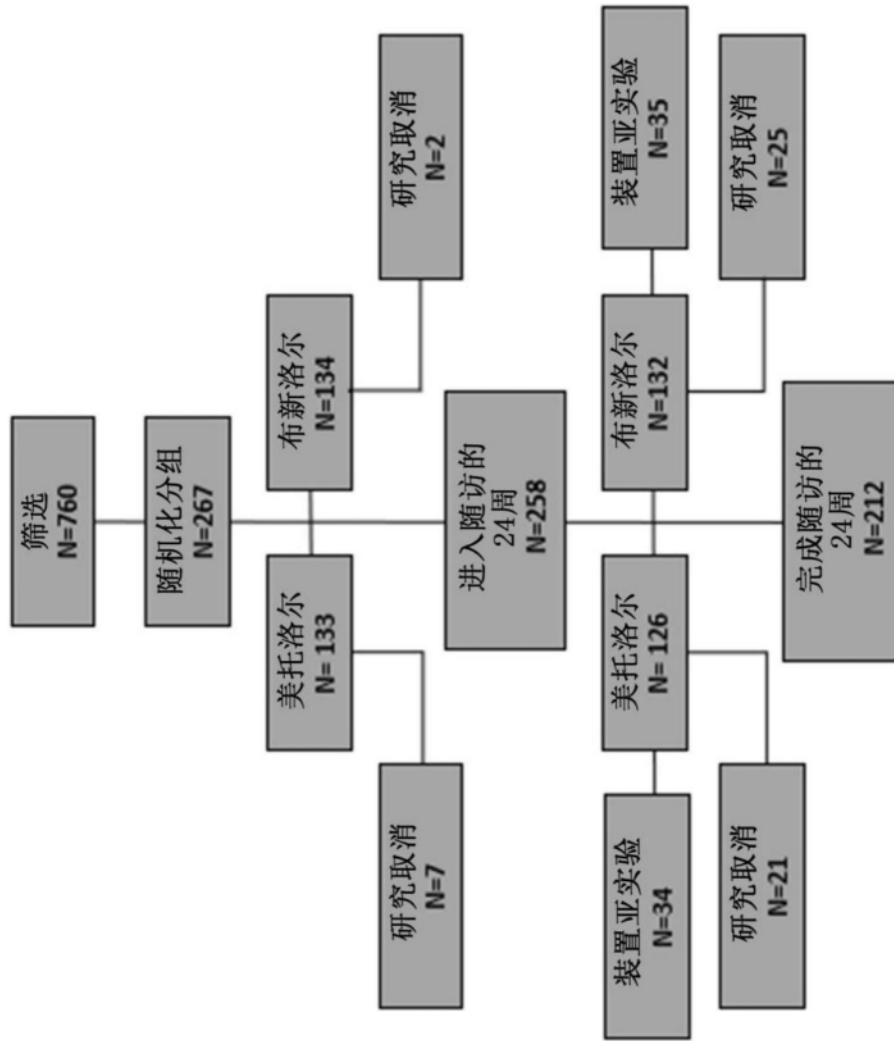


图20



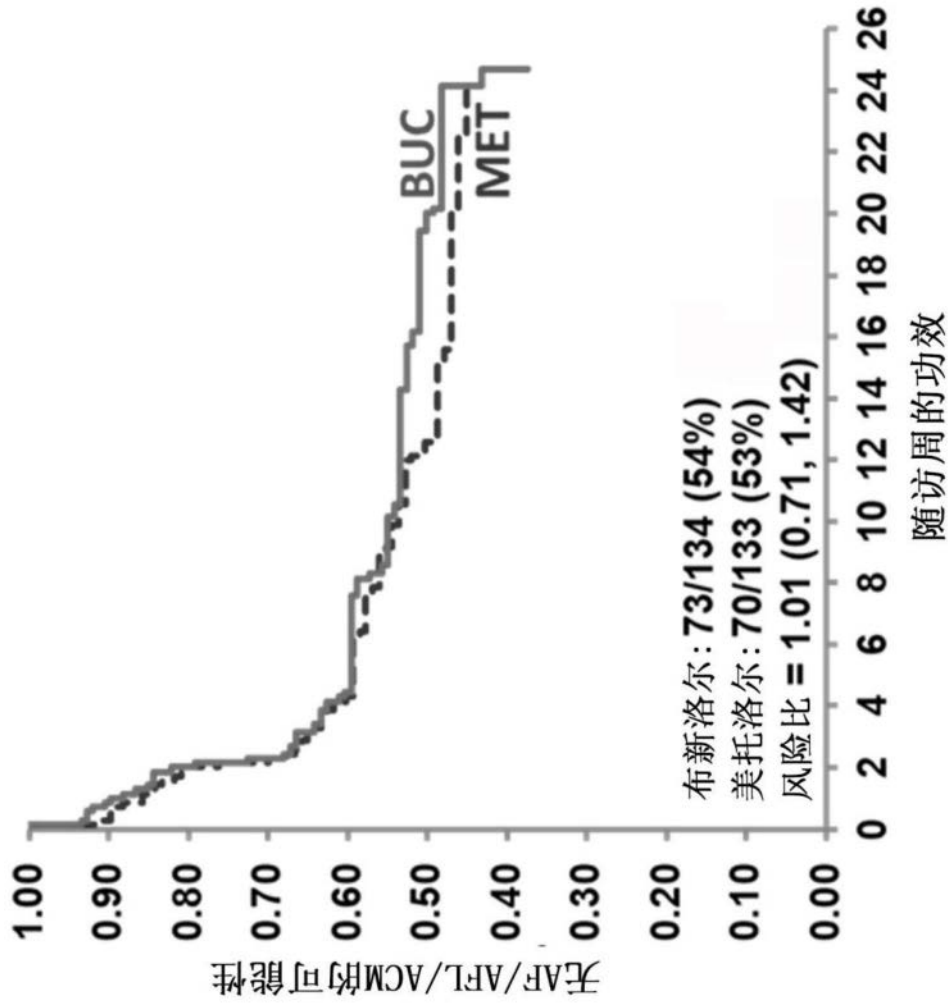


图21

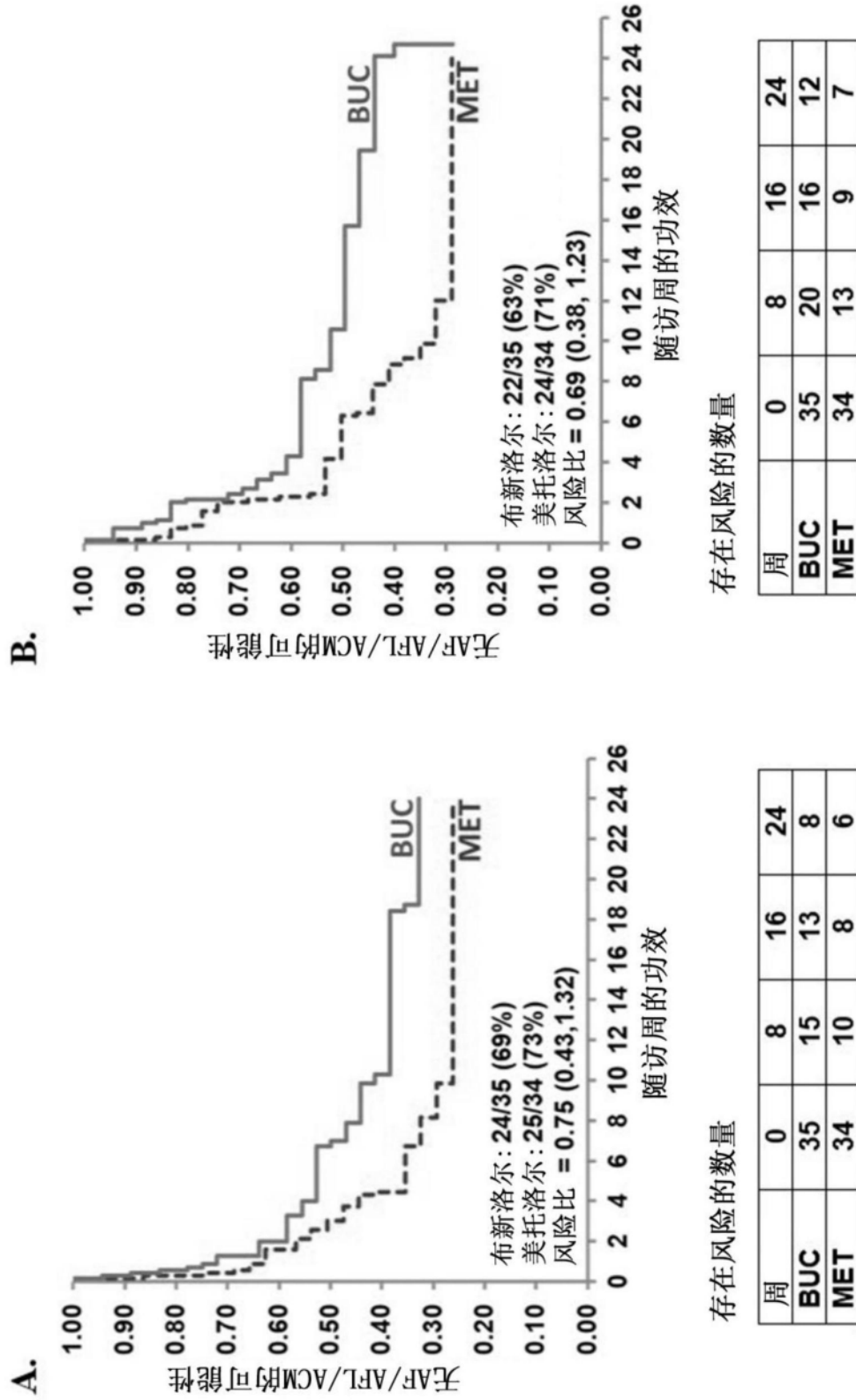


图22A和22B

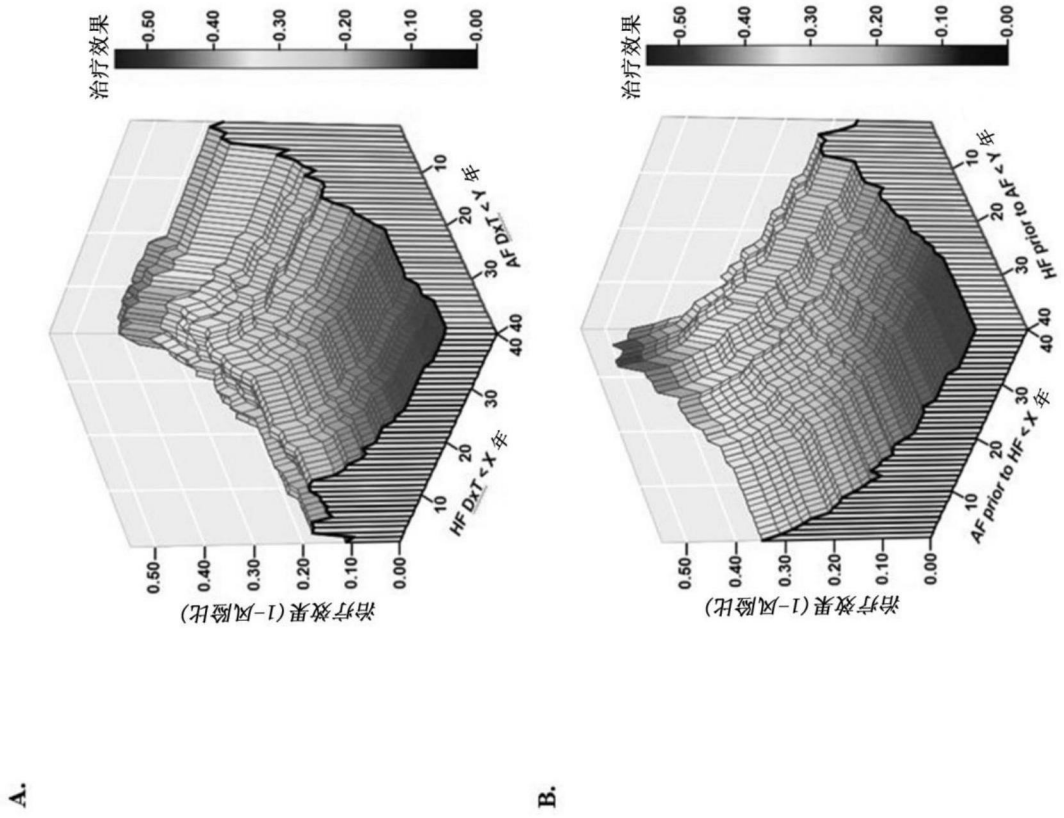


图23A和23B

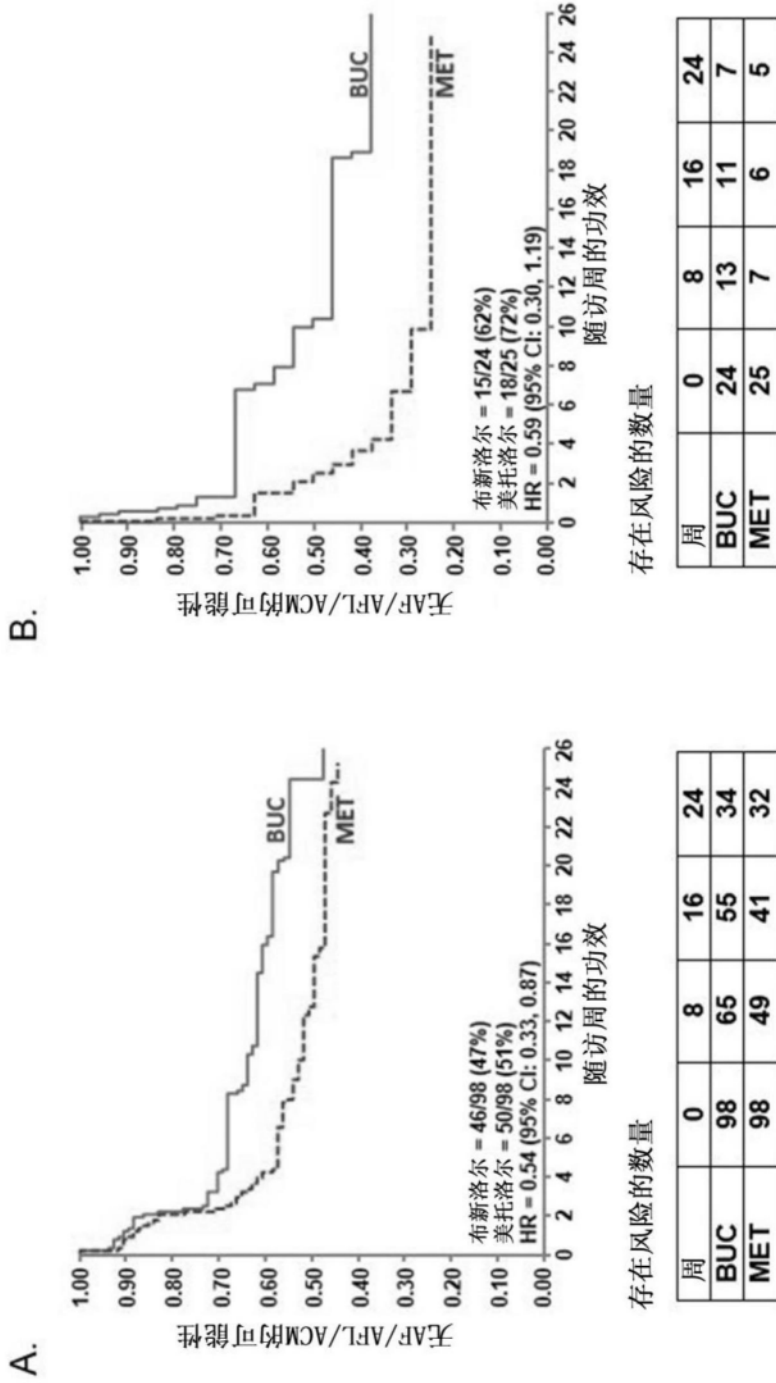


图24A和24B

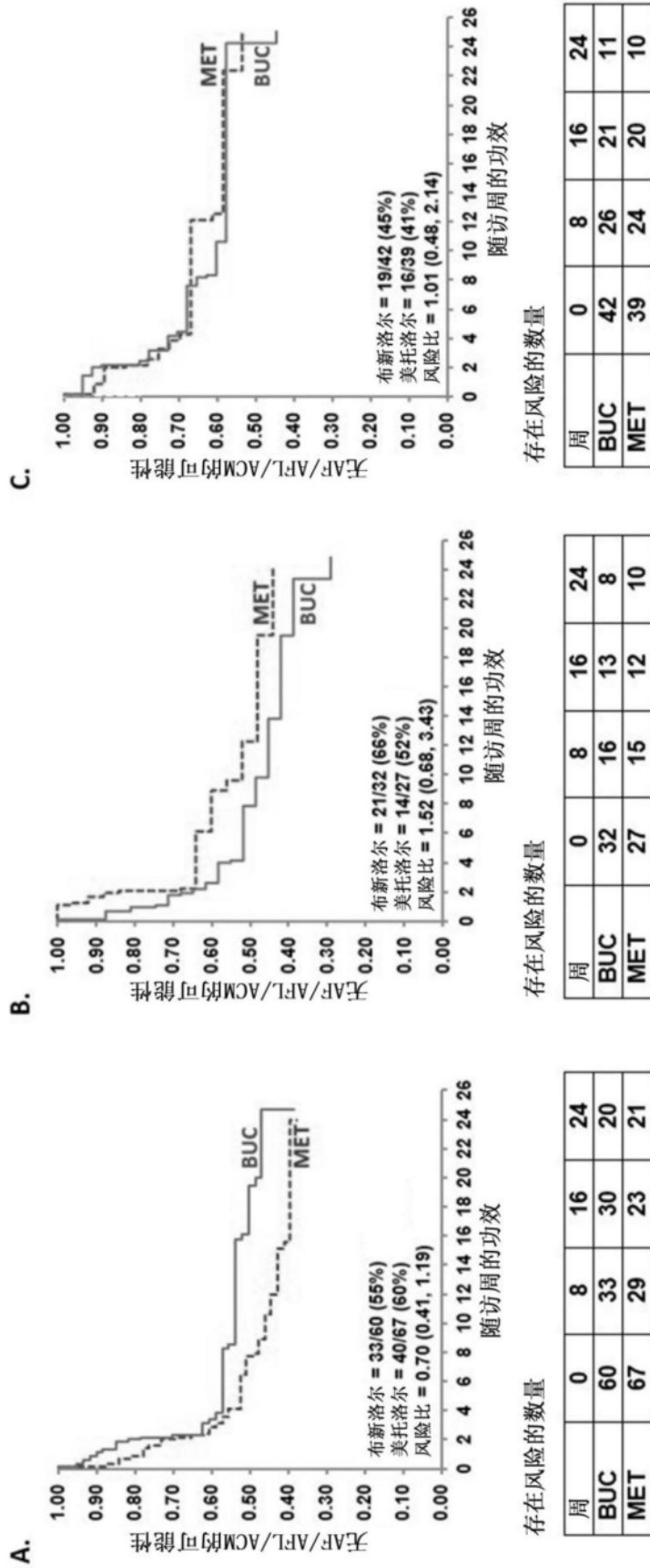


图25A-25C

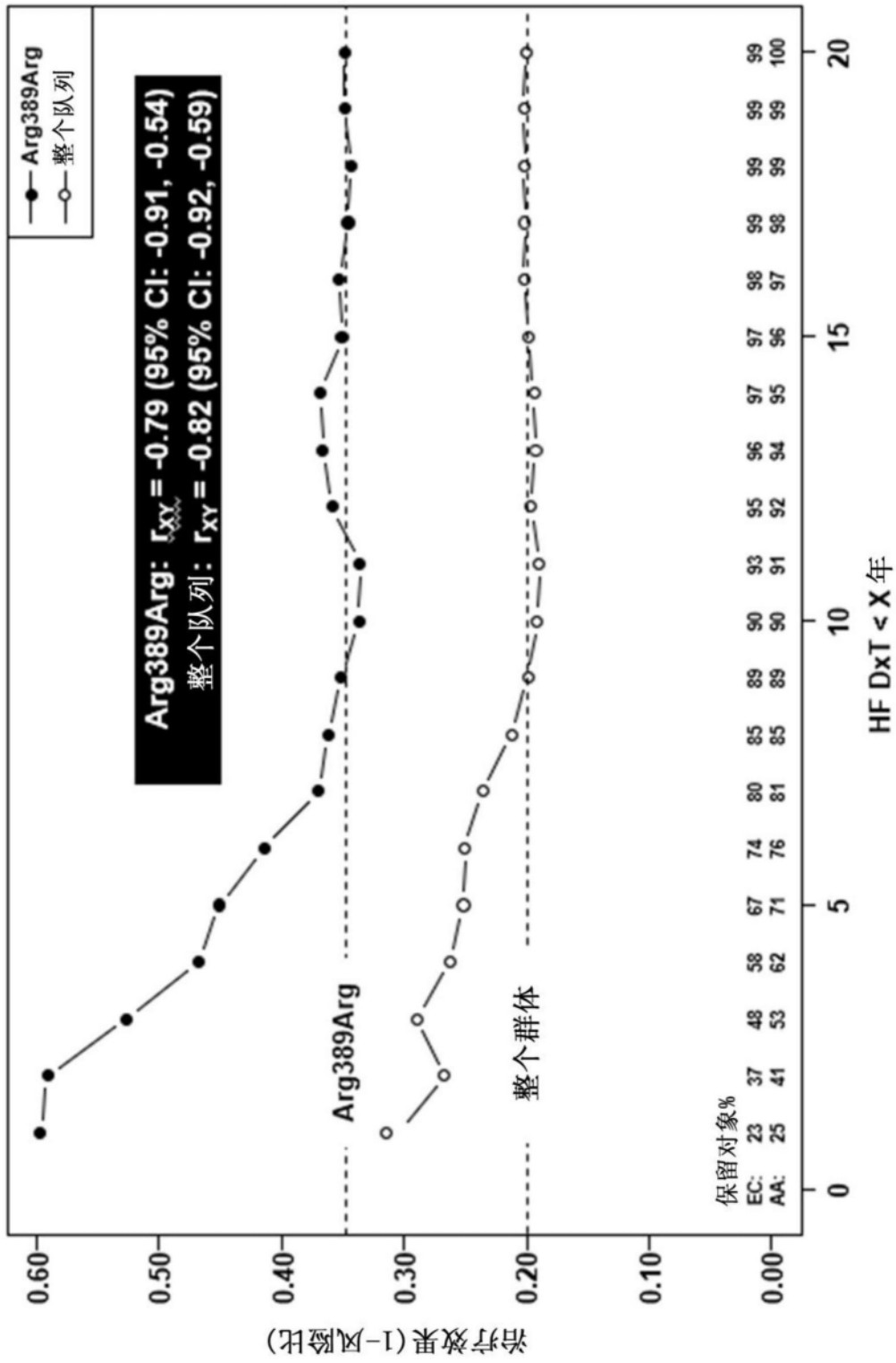


图26



A.

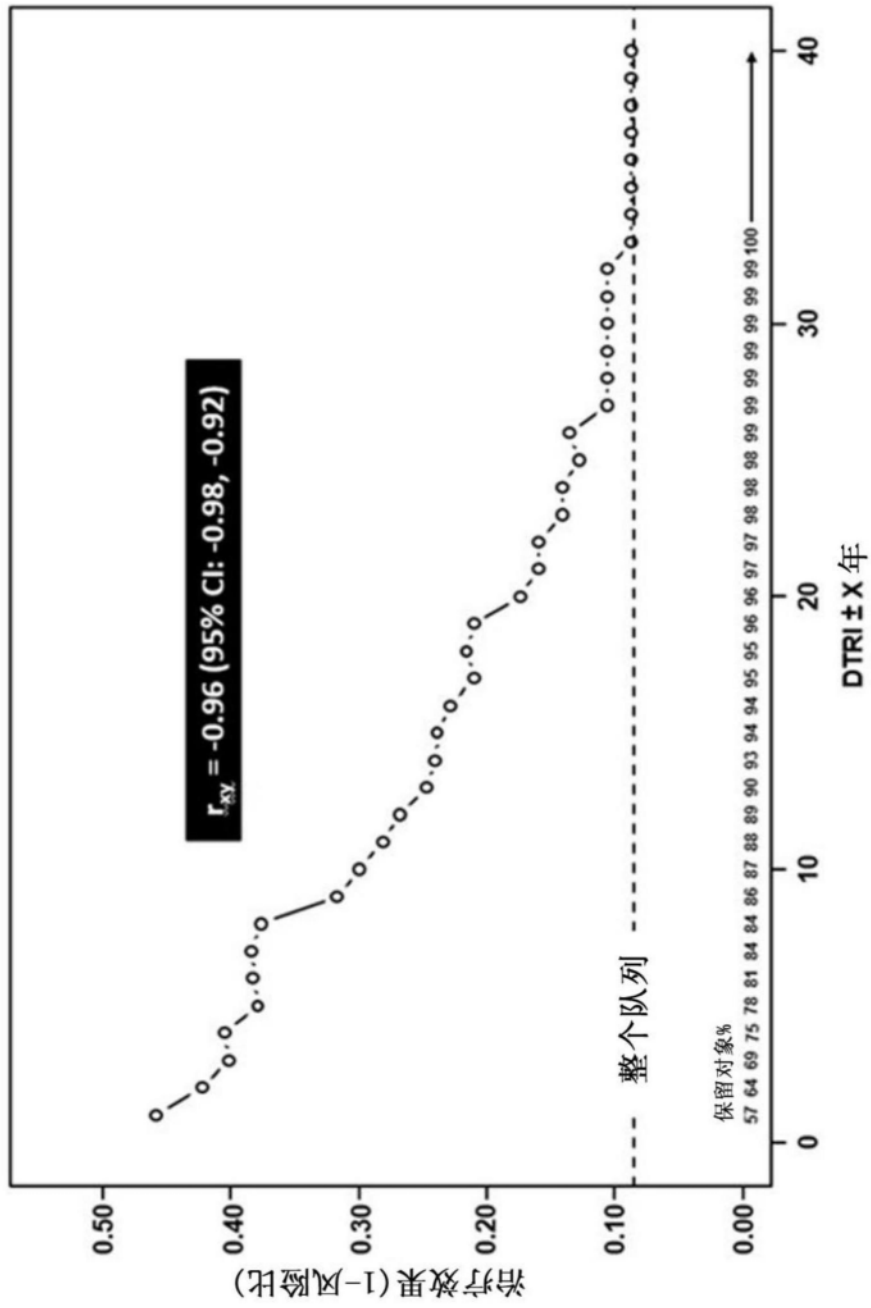
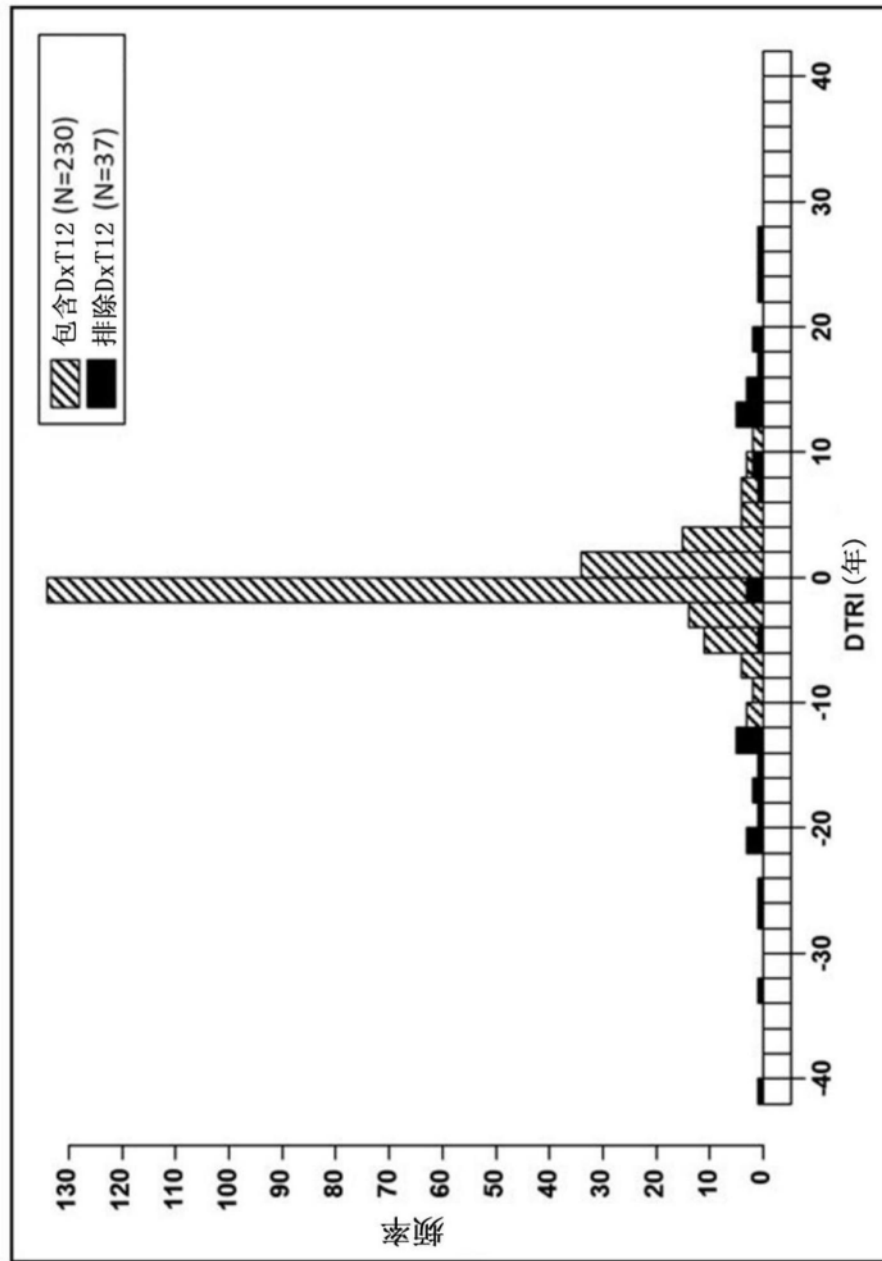


图28A





B.

图28B

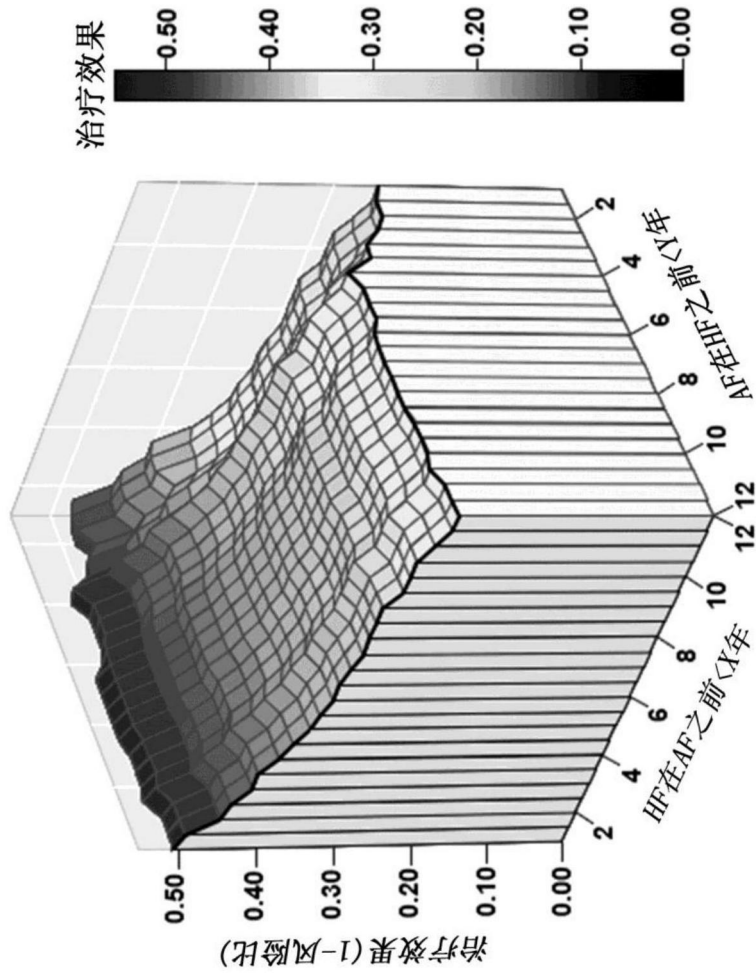


图29

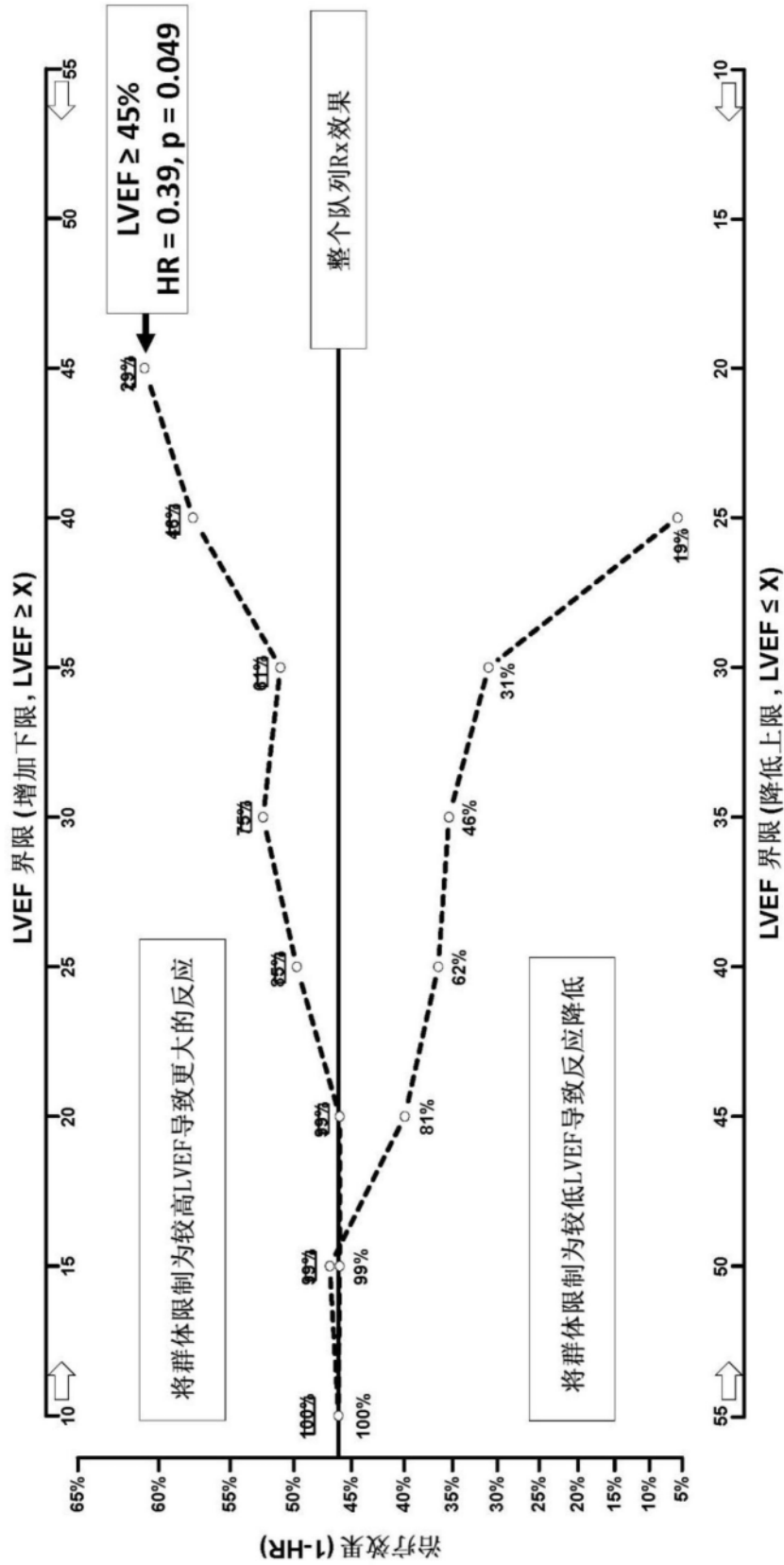


图30

修改的进入标准支持3期成功的高可能性			
群体 亚群	AF/AFL/ACM的时间		P值
	N	风险比(95% 置信区间)	
所有患者 (LVEF40%至53%)	267	1.01 (0.71, 1.42)	0.961
<12年的HF和AF	230	0.68 (0.45, 1.02)	0.064
HF之前不大于2年的AF	196	0.54 (0.33, 0.87)	0.011
<b>LVEF ≥ 40%</b>	<b>91</b>	<b>0.42 (0.21, 0.86)</b>	<b>0.017</b>
<b>LVEF ≥ 45%</b>	<b>57</b>	<b>0.39 (0.15, 1.00)</b>	<b>0.049</b>
具有以下调整的分级Cox比例风险模型: 1) HF病因, 2) LVEF, 3) 随机化分组时的心律, 4) 装置类型和5) 之前3AA类的使用(仅亚群)			

图31

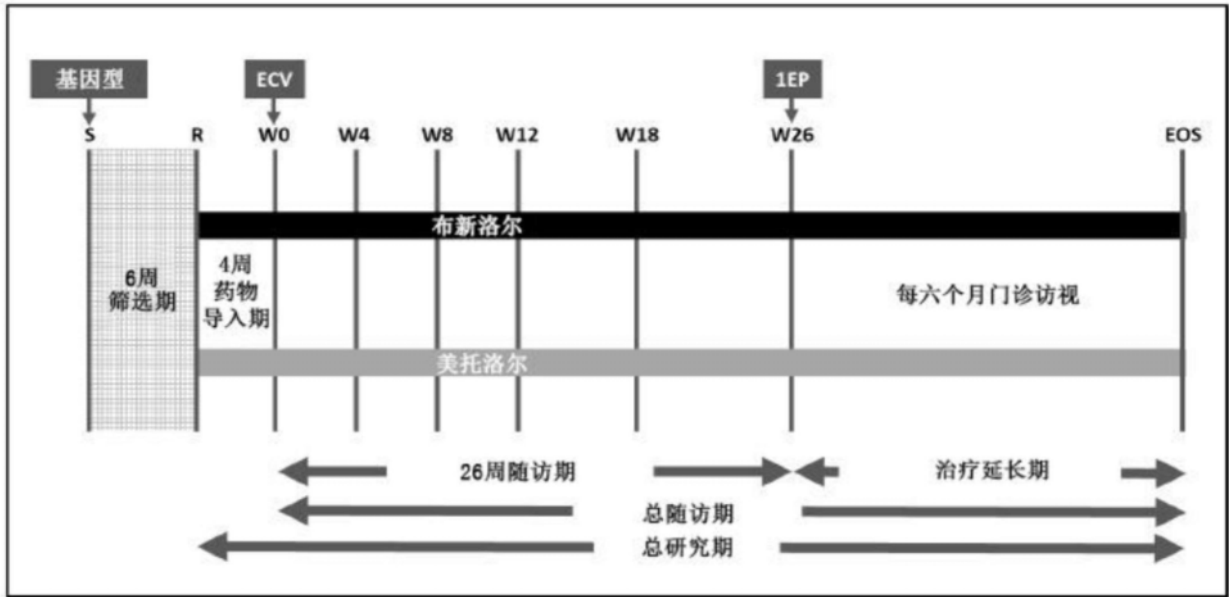


图32