



República Federativa do Brasil  
Ministério do Desenvolvimento, Indústria  
e do Comércio Exterior  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(21) PI 0718830-7 A2**



(22) Data de Depósito: 08/11/2007  
(43) Data da Publicação: 04/02/2014  
(RPI 2248)

(51) *Int.Cl.:*  
A61K 39/395  
C12Q 1/06  
A61P 7/02  
A61P 7/06

**(54) Título:** MÉTODOS PARA TRATAR ANEMIA  
HEMOLÍTICA

**(57) Resumo:**

**(30) Prioridade Unionista:** 08/11/2006 US 11/595.118

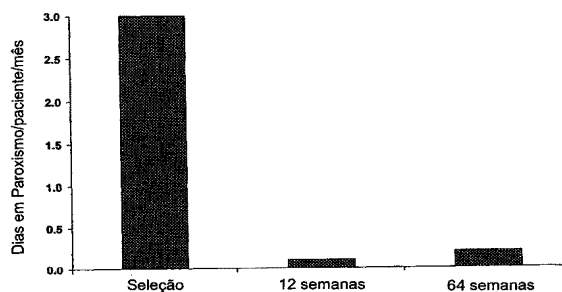
**(73) Titular(es):** Alexion Pharmaceuticals, Inc.

**(72) Inventor(es):** Leonard Bell, Russel P. Rother

**(74) Procurador(es):** Nellie Anne Daniel-Shores

**(86) Pedido Internacional:** PCT US2007023623 de  
08/11/2007

**(87) Publicação Internacional:** WO 2008/069889 de  
12/06/2008



## “MÉTODOS PARA TRATAR ANEMIA HEMOLÍTICA”

### PEDIDOS RELACIONADOS

Este pedido refere-se ao benefício do Pedido U.S. No. 11/595,118, depositado em 8 de novembro de 2006, a completa descrição do qual é incorporada aqui para referência.

### 5 FUNDAMENTOS

#### 1. Campo Técnico

Esta descrição refere-se a um método de tratar uma doença hemolítica tal como, por exemplo, hemoglobinúria noturna paroxismal ("PNH"), administrando um composto que liga-se a, ou bloqueia, a geração e/ou atividade de um ou mais componentes complementa-  
10 res.

#### 2. Fundamentos da Técnica Relacionada

Hemoglobinúria noturna paroxismal ("PNH") é um distúrbio sanguíneo incomum em que células sanguíneas vermelhas são comprometidas e são assim destruídas mais rapidamente do que células sanguíneas vermelhas normais. PNH resulta de uma mutação de  
15 células marrons ósseas que resultam na geração de células sanguíneas anormais. Mais especificamente, acredita-se que PNH seja um distúrbio de células tronco hematopoiéticas, que dão para populações distintas de células sanguíneas maduras. A base da doença parece ser mutações somáticas que levam a inabilidade de sintetizar a âncora glicosil-fosfatidilinositol ("GPI") que é responsável por anexar proteínas às membranas celulares. O  
20 gene mutado, PIG-A (fosfatidilinositol glican classe A) reside no cromossoma X e pode ter muitas mutações diferentes, que variam de deleções a mutações de ponto.

PNH causa uma sensibilidade destruição mediada por complemento e esta sensibilidade ocorre na membrana celular. Células PNH são deficientes em várias proteínas particularmente proteínas de superfície de regulação de complemento. Essas proteínas de superfície de regulação de complemento incluem o fator de aceleração de decomposição  
25 ("DAF") ou CD55 e inibidor de membrana de lise reativa ("MIRL") ou CD59.

PNH é caracterizado por anemia hemolítica (um aumento no número de células vermelhas) e hemoglobinúria (excesso de hemoglobina na urina) indivíduos afetados por PNH são conhecidos como tendo paroxismos, que são definidos aqui como uma exacerba-  
30 ção de hemólise com urina escura. Anemia hemolítica é devido a destruição intravascular de células sanguíneas vermelhas por componentes complementares.

Hemólise resultante de destruição intravascular de células sanguíneas vermelhas causa óxido nítrico local ou sistêmico (NO) deficiências através da liberação de três hemoglobinas. Hemoglobina livre é um limpador muito eficiente de NO, devido em parte à acessi-  
35 bilidade de NO no compartimento de não eritrócito e uma afinidade  $10^6$  vezes maior da porção heme para NO do que aquela para oxigênio. A ocorrência de hemólise intravascular frequentemente gera hemoglobina livre suficiente para completar haptoglobinaa completa-

mente esgotada. Uma vez que a capacidade desta proteína de captura de hemoglobina é excedida, o consumo de NO endógeno se sucede. Por exemplo, em um estabelecimento de hemólise intravascular tal como PNH, onde níveis de LDH rotineiramente excede o limite superior da faixa normal e comumente alcança níveis de 2-3 vezes de seus níveis normais, hemoglobina livre iria provavelmente obter concentrações de 0,8-1,6 g/L. Uma vez que haptoglobinaa pode apenas ligar-se a alguma lugar entre 0,7 a 1,5 g/L de hemoglobina dependente de alótipo de haptoglobinaa, uma larga escala de hemoglobina livre seria gerada. Uma vez que a capacidade de reabsorção de hemoglobina pelos dutos proximais do rim é excedida, a hemoglobinúria se sucede. A liberação de hemoglobina livre durante hemólise intravascular resulta em consumo excessivo de NO com subsequente contração do músculo liso, vasoconstrição e ativação e agregação de plaqueta. Mortandades relacionadas a PNH associadas com captura de NO por hemoglobina incluem dor abdominal, disfunção erétil, espasmo do esôfago, e trombose.

A avaliação laboratorial de hemólise normalmente inclui, testes hematológicos, sorológicos, e de urina. Testes hematológicos incluem um exame do esfregaço sanguíneo para anormalidades morfológicas e células sanguíneas vermelhas (RBCs) (para determinar cansaço), e a medição da contagem de reticulocite em todo o sangue (para determinar compensação de medula óssea para perda de RBC). Testes sorológicos incluem dehidrogenase de lactato (LDH; amplamente realizado), e hemoglobina livre (não amplamente realizada) como uma medida direta de hemólise. Níveis de LDH podem ser úteis no diagnóstico e monitoramento de pacientes com hemólise. Outros testes sorológicos incluem bilirrubina ou haptoglobinaa, como medidas de produtos de desmontagem ou reserva de captura, respectivamente. Os testes de urina incluem bilirrubina, hemosiderina, e hemoglobina livre, e são geralmente usados para medir severidade bruta de hemólise e para diferenciação de etiologias intravasculares vs. Extravasculares de hemólise em vês de monitoramento de rotina de hemólise. Adicionalmente, números de RBC, hemoglobina de RBC (isto é, células ligadas), e hematócritos são geralmente realizados para determinar a extensão de qualquer anemia acompanhante em vex de uma medida de atividade de hemólise per se.

Esteróides têm sido empregados como uma terapia para doenças hemolíticas e podem ser eficazes em suprimir hemólise em alguns pacientes, embora uso de longo prazo de terapia com esteróides possa acarretar efeitos colaterais negativos. Pacientes afligidos podem requerer transfusões sanguíneas, que acarretam riscos de infecção. Terapia anticoagulante pode também ser requerida para evitar formação de coágulo de sangue e pode resultar em hemorragia. Transplante de medula óssea tem sido conhecido para curar PNH, entretanto, compatibilidades de medula óssea são frequentemente muito difíceis de achar e as taxas de mortalidade são altas com este procedimento.

Seria vantajoso prover um tratamento que eliminasse de modo seguro e confiável

e/ou limitasse doenças hemolíticas, tais como PNH, e seus efeitos.

## SUMÁRIO

Em um aspecto, o pedido provê um método para reduzir a ocorrência de trombose em um indivíduo, o método compreendendo inibir complemento no indivíduo. Em certas modalidades, o método compreende administrar um composto ao indivíduo, caracterizado pelo fato de que o composto é selecionado do grupo consistindo em: a) compostos que ligam-se a um ou mais componentes complementares, b) compostos que bloqueiam a geração de um ou mais componentes complementares, e c) compostos que bloqueiam a atividade de um ou mais componentes complementares.

Em certas modalidades, o indivíduo tem um clone de granulócito de hemoglobinúria noturna paroxismal (PNH) maior do que 0,1% da contagem de granulócito total. Em certas modalidades, o indivíduo tem um granulócito de PNH maior do que 1% da contagem de granulócito total. Em certas modalidades, o indivíduo tem um clone de granulócito de PNH maior do que 10% da contagem de granulócito total. Em certas modalidades, o indivíduo tem um clone de granulócito de PNH maior do que 50% da contagem de granulócito total.

Em certas modalidades o composto é selecionado do grupo consistindo em anticorpos, compostos inibitórios de complementos solúveis, proteínas, fragmentos de proteínas, peptídeos, moléculas pequenas, aptamer de RNA, aptamers de L-RNA, spiegelmers, compostos antissentido, inibidores de protease serina, RNA de duplo filamento, RNA de pouca interferência, inibidores de ácido nucléico bloqueado, e inibidores de ácido nucléico de peptídeo.

Em certas modalidades, o composto é selecionado do grupo consistindo em CRI, LEX-CRI, MCP, DAF, CD59, Fator H, fator de veneno de cobra, FUT-175, complestatinaa, e K76 COOH.

Em certas modalidades, o composto inibe atividade C5b. Em certas modalidades, o composto inibe clivagem de C5. Em certas modalidades o composto inibe complemento terminal. Em certas modalidades, o composto inibe ligação de C5a a seu receptor.

Em certas modalidades, o indivíduo é um humano. Em certas modalidades, o indivíduo tem um histórico de um ou mais eventos trombóticos.

Em certas modalidades, o composto é um anticorpo ou fragmento de anticorpo. Em certas modalidades, o anticorpo ou fragmento de anticorpo é selecionado do grupo consistindo em um anticorpo policlonal, anticorpo monoclonal, ou fragmento de anticorpo, um diacorpo, um anticorpo quimerizado ou quimérico, ou fragmento de anticorpo, um anticorpo humanizado ou fragmento de anticorpo, um anticorpo de humano desimmunizado ou fragmento de anticorpo, um anticorpo completamente humano ou fragmento de anticorpo, um anticorpo de cadeia simples, um Fv, um Fab, um Fab', um Fd, e um F(ab')<sub>2</sub>.

Em certas modalidades, o anticorpo é pexelizumab. Em certas modalidades, o anti-

corpo é eculizumab.

Em certas modalidades, o composto é administrado cronicamente ao indivíduo. Em certas modalidades, o composto é administrado sistemicamente ao indivíduo. Em certas modalidades, o composto é administrado localmente ao indivíduo.

5 Em certas modalidades, o método reduz as taxas de tromboembolismo maiores do que 25%. Em certas modalidades, o método reduz as taxas de tromboembolismo maiores do que 50%. Em certas modalidades, o método reduz as taxas de tromboembolismo maiores do que 75%. Em certas modalidades, o método reduz as taxas de tromboembolismo maiores do que 90%.

10 Em certas modalidades, o método resulta em pelo menos uma redução de 25% nos níveis de LDH. Em certas modalidades, o método resulta em pelo menos uma redução de 50% nos níveis de LDH. Em certas modalidades, o método resulta em pelo menos uma redução de 75% nos níveis de LDH. Em certas modalidades, o método, em um indivíduo, resulta em pelo menos uma redução de 90% nos níveis de LDH.

15 Em certas modalidades, o método adicionalmente compreende administrar um segundo composto, em que o segundo composto aumenta hematopoiese. Em certas modalidades, o segundo composto é selecionado do grupo consistindo em esteróides, imunossuppressores, anticoagulantes, ácido fólico, ferro, eritropoietina (EPO), EPO pegylado, Miméticas de EPO, Aranesp®, agentes de estimulação de eritropoiese, globulina antitimócito  
20 (ATG) e globulina antilinfócito (ALG). Em certas modalidades, EPO é administrado com um anticorpo anti-C5. Em certas modalidades, o anticorpo é pexelizumab. Em certas modalidades, o anticorpo é eculizumab.

Em certas modalidades, o método adicionalmente compreende administrar um composto antitrombótico. Em certas modalidades, o composto antitrombótico é um anticoa-  
25 gulante. Em certas modalidades, o anticoagulante é administrado com um anticorpo anti-C5. Em certas modalidades, o anticoagulante é um agente antiplaqueta. Em certas modalidades, o anticorpo é pexelizumab. Em certas modalidades, o anticorpo é eculizumab.

Em outro aspecto, o pedido provê um método para reduzir a ocorrência de trombose em um indivíduo que tem um nível de dehidrogenase de lactato (LDH) mais elevado do  
30 que normal, o método compreendendo inibir complemento no indivíduo.

Em certas modalidades, o método compreende administrar um composto ao indivíduo, caracterizado pelo fato de que o composto é selecionado do grupo consistindo em: a) compostos que ligam-se a um ou mais componentes complementares, b) compostos que bloqueiam a geração de um ou mais componentes complementares, e c) compostos que  
35 bloqueiam a atividade de um ou mais componentes complementares.

Em certas modalidades, o indivíduo tem um nível de LDH maior do que o limite superior de normal. Em certas modalidades, o indivíduo tem um nível de LDH maior do que ou

igual a 1,5 vezes o limite superior de normal. Em certas modalidades, o indivíduo tem um nível de LDH maior do que ou igual a 2,5 vezes o limite superior de normal. Em certas modalidades, o indivíduo tem um nível de LDH maior do que ou igual a 5 vezes o limite superior de normal. Em certas modalidades, o indivíduo tem um nível de LDH maior do que ou igual a 10 vezes o limite superior de normal.

Em certas modalidades, o composto é selecionado do grupo consistindo em anticorpos, compostos inibitórios de complemento solúvel, proteínas, fragmentos de proteína, peptídeos, moléculas pequenas, Aptamers de RNA, L-Aptamers de RNA, spiegelmers, compostos antissentido, inibidores de protease serina, RNA de duplo filamento, RNA de pequena interferência, inibidores de ácido nucléico bloqueado, e inibidores de ácido nucléico de peptídeo.

Em certas modalidades, o composto é selecionado do grupo consistindo em CRI, LEX-CRI, MCP, DAF, CD59, Fator H, fator de veneno de cobra, FUT-175, complestatina, e COOH K76.

Em certas modalidades, o composto inibe atividade C5b. Em certas modalidades, o composto inibe clibagem de C5. Em certas modalidades, o composto inibe complemento terminal. Em certas modalidades, o composto inibe atividade C5a ou inibe ligação de C5a a seu receptor.

Em certas modalidades, o indivíduo é um humano. Em certas modalidades, o indivíduo tem um histórico de uma ou mais eventos trombóticos. Em certas modalidades, o composto é um anticorpo ou fragmento de anticorpo.

Em certas modalidades, o anticorpo ou fragmento de anticorpo é selecionado do grupo consistindo em um anticorpo policlonal, um anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo, um diacorpo, um anticorpo quimerizado ou quimérico ou fragmento de anticorpo, um anticorpo humanizado ou fragmento de anticorpo, um anticorpo humano desimunizado ou fragmento de anticorpo, um anticorpo completamente humano ou fragmento de anticorpo, um anticorpo de cadeia simples, um Fv, um Fab, um Fab', um Fd, e um F(ab')<sub>2</sub>.

Em certas modalidades, o anticorpo é pexelizumab. Em certas modalidades, o anticorpo é eculizumab.

Em certas modalidades, o composto é administrado cronicamente ao indivíduo. Em certas modalidades, o composto é administrado sistemicamente ao indivíduo. Em certas modalidades, o composto é administrado localmente ao indivíduo.

Em certas modalidades, o método reduz as taxas de tromboembolismo maiores do que 25%. Em certas modalidades, o método reduz as taxas de tromboembolismo maiores do que 50%. Em certas modalidades, o método reduz as taxas de tromboembolismo maiores do que 75%. Em certas modalidades, o método reduz as taxas de tromboembolismo maiores do que 90%.

Em certas modalidades, o método resulta em pelo menos uma redução de 25% nos níveis de LDH. Em certas modalidades, o método resulta em pelo menos uma redução de 50% nos níveis de LDH. Em certas modalidades, o método resulta em pelo menos uma redução de 75% nos níveis de LDH. Em certas modalidades, o método, em um indivíduo, resulta em pelo menos uma redução de 90% nos níveis de LDH.

Em certas modalidades, o método adicionalmente compreende administrar um segundo composto, em que o segundo composto aumenta hematopoiese. Em certas modalidades, o segundo composto é selecionado do grupo consistindo em esteróides, imunossuppressores, anticoagulantes, ácido fólico, ferro, eritropoietina (EPO), EPO pegylado, Miméticas de EPO, Aranesp®, agentes de estimulação de eritropoiese, globulina antitimócito (ATG) e globulina antilinfócito (ALG). Em certas modalidades, EPO é administrado com um anticorpo anti-C5. Em certas modalidades, o anticorpo é pexelizumab. Em certas modalidades, o anticorpo é eculizumab. Em certas modalidades, o método adicionalmente compreende administrar um composto antitrombótico. Em certas modalidades, o composto antitrombótico é um anticoagulante. Em certas modalidades, o anticoagulante é administrado com um anticorpo anti-C5. Em certas modalidades, o anticoagulante é um agente antiplaqueta. Em certas modalidades, o anticorpo é pexelizumab. Em certas modalidades, o anticorpo é eculizumab.

Em ainda outro aspecto, o pedido provê um método para reduzir a ocorrência de trombose em um indivíduo que tem um clone de granulócito de PNH e um nível LDH maior do que o limite superior de normal, o método compreendendo inibir complemento no indivíduo. Em certas modalidades, o método compreende administrar um composto ao indivíduo, caracterizado pelo fato de que o composto é selecionado do grupo consistindo em: a) compostos que ligam-se a um ou mais componentes complementares, b) compostos que bloqueiam a geração de um ou mais componentes complementares, e c) compostos que bloqueiam a atividade de um ou mais componentes complementares.

Em certas modalidades, o indivíduo tem um clone de granulócito de PNH maior do que 0,1% da contagem de granulócito total. Em certas modalidades, o indivíduo tem um clone de granulócito de PNH maior do que 0,1 % da contagem de granulócito total. Em certas modalidades, o indivíduo tem um clone de granulócito de PNH maior do que 1% da contagem de granulócito total. Em certas modalidades, o indivíduo tem um clone de granulócito de PNH maior do que 10% da contagem de granulócito total. Em certas modalidades, o indivíduo tem um clone de granulócito de PNH maior do que 50% da contagem de granulócito total.

Em certas modalidades, o composto é selecionado do grupo consistindo em anticorpos, compostos inibitórios de complemento solúvel, proteínas, fragmentos de proteína, peptídeos, moléculas pequenas, Aptamers de RNA, L-Aptamers de RNA, spiegelmers, com-

postos antissentido, inibidores de protease serina, RNA de duplo filamento, RNA de pequena interferência, inibidores de ácido nucléico bloqueado, e inibidores de ácido nucléico de peptídeo.

Em certas modalidades, o composto é selecionado do grupo consistindo em of CRI, LEX-CRI, MCP, DAF, CD59, Fator H, fator de veneno de cobra, FUT- 175, complestatina, e COOH K76.

Em certas modalidades, o composto inibe atividade C5b. Em certas modalidades, o composto inibe clibagem de C5. Em certas modalidades, o composto inibe complemento terminal. Em certas modalidades, o composto inibe atividade C5a ou inibe ligação de C5a a seu receptor.

Em certas modalidades, o indivíduo é um humano. Em certas modalidades, o indivíduo tem um histórico de uma ou mais eventos trombóticos.

Em certas modalidades, o composto é um anticorpo ou fragmento de anticorpo. Em certas modalidades, o anticorpo ou fragmento de anticorpo é selecionado do grupo consistindo em um anticorpo policlonal, um anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo, um diacorpo, um anticorpo quimerizado ou quimérico ou fragmento de anticorpo, um anticorpo humanizado ou fragmento de anticorpo, um anticorpo humano desimunizado ou fragmento de anticorpo, um anticorpo completamente humano ou fragmento de anticorpo, um anticorpo de cadeia simples, um Fv, um Fab, um Fab', um Fd, e um F(ab')<sub>2</sub>.

Em certas modalidades, o anticorpo é pexelizumab. Em certas modalidades, o anticorpo é eculizumab.

Em certas modalidades, o composto é administrado cronicamente ao indivíduo. Em certas modalidades, o composto é administrado sistemicamente ao indivíduo. Em certas modalidades, o composto é administrado localmente ao indivíduo.

Em certas modalidades, o método reduz as taxas de tromboembolismo maiores do que 25%. Em certas modalidades, o método reduz as taxas de tromboembolismo maiores do que 50%. Em certas modalidades, o método reduz as taxas de tromboembolismo maiores do que 75%. Em certas modalidades, o método reduz as taxas de tromboembolismo maiores do que 90%.

Em certas modalidades, o método resulta em pelo menos uma redução de 25% nos níveis de LDH. Em certas modalidades, o método resulta em pelo menos uma redução de 50% nos níveis de LDH. Em certas modalidades, o método resulta em pelo menos uma redução de 75% nos níveis de LDH. Em certas modalidades, o método, em um indivíduo, resulta em pelo menos uma redução de 90% nos níveis de LDH.

Em certas modalidades, o método adicionalmente compreende administrar um segundo composto, em que o segundo composto aumenta hematopoiese. Em certas modalidades, o segundo composto é selecionado do grupo consistindo em esteróides, imunossu-



pressores, anticoagulantes, ácido fólico, ferro, eritropoietina (EPO), EPO pegylado, Miméticas de EPO, Aranesp®, agentes de estimulação de eritropoiese, globulina antitimócito (ATG) e globulina antilinfócito (ALG). Em certas modalidades, EPO é administrado com um anticorpo anti-C5. Em certas modalidades, o anticorpo é pexelizumab. Em certas modalidades, o anticorpo é eculizumab.

Em certas modalidades, o método adicionalmente compreende administrar um composto antitrombótico. Em certas modalidades, o composto antitrombótico é um anticoagulante. Em certas modalidades, o anticoagulante é administrado com um anticorpo anti-C5. Em certas modalidades, o anticoagulante é um agente antiplaqueta. Em certas modalidades, o anticorpo é pexelizumab. Em certas modalidades, o anticorpo é eculizumab.

Em ainda outro aspecto, o pedido provê um método para reduzir a ocorrência de trombose em um indivíduo sofrendo de um nível de óxido nítrico (NO) menor do que o normal, o método compreendendo inibir complemento no indivíduo. Em certas modalidades, o método compreende administrar um composto ao indivíduo, caracterizado pelo fato de que o composto é selecionado do grupo consistindo em: i) compostos que ligam-se a um ou mais componentes complementares, ii) compostos que bloqueiam a geração de um ou mais componentes complementares, e iii) compostos que bloqueiam a atividade de um ou mais componentes complementares, em que o método aumenta os níveis de óxido nítrico (NO) do soro.

Em certas modalidades, o método aumenta níveis de NO para maiores do que 25%. Em certas modalidades, o método aumenta níveis de NO para maiores do que 50%. Em certas modalidades, o método aumenta níveis de NO para maiores do que 100%. Em certas modalidades, o método aumenta níveis de NO para maiores do que 3 vezes. Em certas modalidades, o indivíduo de PNH.

Em certas modalidades, o composto é selecionado do grupo consistindo em anticorpos, compostos inibitórios de complemento solúvel, proteínas, fragmentos de proteína, peptídeos, moléculas pequenas, Aptamers de RNA, L-Aptamers de RNA, spiegelmers, compostos antissentido, inibidores de protease serina, RNA de duplo filamento, RNA de pequena interferência, inibidores de ácido nucléico bloqueado, e inibidores de ácido nucléico de peptídeo.

Em certas modalidades, o composto é selecionado do grupo consistindo em of CRI, LEX-CRI, MCP, DAF, CD59, Fator H, fator de veneno de cobra, FUT-175, complestatina, e COOH K76.

Em certas modalidades, o composto inibe atividade C5b. Em certas modalidades, o composto inibe clibagem de C5. Em certas modalidades, o composto inibe complemento terminal. Em certas modalidades, o composto inibe atividade C5a ou inibe ligação de C5a a seu receptor.

Em certas modalidades, o indivíduo é um humano. Em certas modalidades, o indivíduo tem um histórico de uma ou mais eventos trombóticos.

Em certas modalidades, o composto é um anticorpo ou fragmento de anticorpo. Em certas modalidades, o anticorpo ou fragmento de anticorpo é selecionado do grupo consistindo em um anticorpo policlonal, um anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo, um diacorpo, um anticorpo quimerizado ou quimérico ou fragmento de anticorpo, um anticorpo humanizado ou fragmento de anticorpo, um anticorpo humano desimunizado ou fragmento de anticorpo, um anticorpo completamente humano ou fragmento de anticorpo, um anticorpo de cadeia simples, um Fv, um Fab, um Fab', um Fd, e um F(ab')<sub>2</sub>.

Em certas modalidades, o anticorpo é pexelizumab. Em certas modalidades, o anticorpo é eculizumab.

Em certas modalidades, o composto é administrado cronicamente ao indivíduo. Em certas modalidades, o composto é administrado sistemicamente ao indivíduo. Em certas modalidades, o composto é administrado localmente ao indivíduo.

Em certas modalidades, o método reduz as taxas de tromboembolismo maiores do que 25%. Em certas modalidades, o método reduz as taxas de tromboembolismo maiores do que 50%. Em certas modalidades, o método reduz as taxas de tromboembolismo maiores do que 75%. Em certas modalidades, o método reduz as taxas de tromboembolismo maiores do que 90%.

Em certas modalidades, o método resulta em pelo menos uma redução de 25% nos níveis de LDH. Em certas modalidades, o método resulta em pelo menos uma redução de 50% nos níveis de LDH. Em certas modalidades, o método resulta em pelo menos uma redução de 75% nos níveis de LDH. Em certas modalidades, o método, em um indivíduo, resulta em pelo menos uma redução de 90% nos níveis de LDH.

Em certas modalidades, o método adicionalmente compreende administrar um segundo composto, em que o segundo composto aumenta hematopoiese. Em certas modalidades, o segundo composto é selecionado do grupo consistindo em esteróides, imunossuppressores, anticoagulantes, ácido fólico, ferro, eritropoietina (EPO), EPO pegylado, Miméticas de EPO, Aranesp®, agentes de estimulação de eritropoiese, globulina antitimócito (ATG) e globulina antilinfócito (ALG). Em certas modalidades, EPO é administrado com um anticorpo anti-C5. Em certas modalidades, o anticorpo é pexelizumab. Em certas modalidades, o anticorpo é eculizumab.

Em certas modalidades, o método adicionalmente compreende administrar um composto antitrombótico. Em certas modalidades, o composto antitrombótico é um anticoagulante. Em certas modalidades, o anticoagulante é administrado com um anticorpo anti-C5. Em certas modalidades, o anticoagulante é um agente antiplaqueta. Em certas modalidades, o anticorpo é pexelizumab.

Em certas modalidades, o anticorpo é eculizumab. Em outro aspecto, o pedido provê um método para determinar se um indivíduo tendo um distúrbio hemolítico é suscetível à trombose que compreende medir o tamanho de clone de granulócito de PNH ao indivíduo, em que se o tamanho do clone for maior do que 0,1% então o indivíduo é suscetível à trombose. Em certas modalidades, o tamanho do clone é maior do que 1%. Em certas modalidades, o tamanho do clone é maior do que 10%. Em certas modalidades, o tamanho do clone é maior do que 50%.

Em ainda outro aspecto, o pedido provê um método para aumentar a massa de célula sanguínea vermelha de PNH de um indivíduo, o método compreendendo inibir complemento no indivíduo. Em certas modalidades, o método compreende administrar um composto ao indivíduo, o composto sendo selecionado do grupo consistindo em: i) compostos que ligam-se a um ou mais componentes complementares, ii) compostos que bloqueiam a geração de um ou mais componentes complementares, e iii) compostos que bloqueiam a atividade de um ou mais componentes complementares.

Em certas modalidades, o indivíduo tem um clone de granulócito de PNH. Em certas modalidades, o clone de granulócito de PNH é maior do que 0,1% da contagem de granulócito total. Em certas modalidades, o clone de granulócito de PNH é maior do que 1% da contagem de granulócito total. Em certas modalidades, o clone de granulócito de PNH é maior do que 10% da contagem de granulócito total. Em certas modalidades, o clone de granulócito de PNH é maior do que 50% da contagem de granulócito total.

Em certas modalidades, o indivíduo tem um nível de LDH maior do que o limite superior de normal. Em certas modalidades, o indivíduo tem um nível de LDH maior do que ou igual a 1,5 vezes o limite superior de normal. Em certas modalidades, o indivíduo tem um nível de LDH maior do que ou igual a 2,5 vezes o limite superior de normal. Em certas modalidades, o indivíduo tem um nível de LDH maior do que ou igual a 5 vezes o limite superior de normal. Em certas modalidades, o indivíduo tem um nível de LDH maior do que ou igual a 10 vezes o limite superior de normal.

Em ainda outro aspecto, o pedido provê um método para tratar anemia hemolítica em um indivíduo, o método compreendendo inibir complemento no indivíduo. Em certas modalidades, o método compreende administrar um composto ao indivíduo, caracterizado pelo fato de que o composto é selecionado do grupo consistindo em: i) compostos que ligam-se a um ou mais componentes complementares, ii) compostos que bloqueiam a geração de um ou mais componentes complementares, e iii) compostos que bloqueiam a atividade de um ou mais componentes complementares, em que o método aumenta a massa de células sanguíneas vermelhas (RBC).

Em certas modalidades, a massa de RBC é medida como o número absoluto de RBCs. Em certas modalidades, a massa de RBC é massa de RBC de PNH. Em certas mo-

dalidades, o método aumenta a massa de RBC para maior do que 10%. Em certas modalidades, o método aumenta a massa de RBC para maior do que 25%. Em certas modalidades, o método aumenta a massa de RBC para maior do que 50%. Em certas modalidades, o método aumenta a massa de RBC para maior do que 100%. Em certas modalidades, o método aumenta a massa de RBC para maior do que 2 vezes.

Em certas modalidades, o método diminui exigências de transfusão.

Em certas modalidades, o método estabiliza níveis de hemoglobina.

Em certas modalidades, o método causa um aumento nos níveis de hemoglobina.

Este pedido contempla combinações de quaisquer aspectos e modalidades precedentes.

#### BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A FIGURA 1A refere-se a parâmetros bioquímicos medidos durante tratamento de pacientes com PNH com um anticorpo anti-C5.

A FIGURA 1B graficamente mostra o efeito do tratamento com um anticorpo anti-C5 sobre níveis de dehidrogenase de lactato (LDH).

A FIGURA 2 mostra uma escala de cor da urina planejada para monitorar a incidência de paroxismo de hemoglobinúria em pacientes com PNH.

A FIGURA 3 é um gráfico dos efeitos de tratamentos com eculizumab sobre taxas de paroxismo de paciente, como comparado a taxas de pré-tratamento.

A FIGURA 4 mostra amostras de urinas de pacientes com PNH e medições de hemoglobinúria, disalgia, LDH, AST, farmacocinéticas (PK) e farmacodinâmica (PD) refletindo os efeitos imediatos e positivos dos presentes métodos em hemólise, sintomas e farmacodinâmicas adequadas para bloquear completamente complemento.

A FIGURA 5 graficamente mostra o efeito de programa de dosagem de anticorpo anti-C5 sobre hemoglobinúria sobre tempo.

As FIGURAS 6a e 6b são gráficos comparando o número de unidades de transfusões requeridas por paciente por mês, antes e durante o tratamento com um anticorpo anti-C5: A FIGURA 6a mostra pacientes citopênicos; e a FIGURA 6b mostra pacientes não citopênicos.

A FIGURA 7 mostra o gerenciamento de um paciente trombocitopênico administrando um anticorpo anti-C5 e eritropoietina (EPO).

A FIGURA 8 mostra graficamente as farmacodinâmicas de um anticorpo anti-C5.

A FIGURA 9 é um gráfico dos resultados da Organização Européia para Pesquisa e Tratamento de Questões referentes ao Câncer ("EORTC QLC-C30") completados durante o regime de terapia anti-C5 remetendo qualidade de assuntos vitais.

A FIGURA 10 é um gráfico mostrando os efeitos de tratamentos com anticorpo anti-C5 sobre sintomas adversos associados com PNH.

A FIGURA 11 mostra mudanças na massa RBC de PNH durante tratamento com eculizumab comparado com placebo.

A FIGURA 12 mostra o efeito de eculizumab eritropoietina humana recombinante sobre massa RBC tipo III de PNH e exigências de transfusão. Os diamantes representam  
5 contagens de RBC tipo III de PNH e as barras sólidas representam o número de unidades de células vermelhas embaladas (PRBC) transfundidas. O eixo X indica data.

A FIGURA 13 mostra mudanças em resultado FACIT-Fatiga score durante tratamento com eculizumab e para controle de placebo.

#### DESCRIÇÃO DETALHADA

10 A presente descrição refere-se a um método para tratar hemoglobinúria noturna paroxismal ("PNH") e outras doenças hemolíticas em mamífero, que são descritas aqui, envolvendo usar compostos que se ligam, ou de outra maneira, bloqueiam a geração e/ou atividade de um ou mais componentes complementares. Os presentes métodos foram descobertos para prover resultados surpreendentes. Por exemplo, a hemólise rapidamente cessa ao  
15 administrar o composto que se liga a, ou de outra maneira, bloqueia a geração e/ou atividade de um ou mais componentes complementares, com LDH e hemoglobinúria sendo significativamente reduzidos imediatamente após o tratamento. Também pacientes hemolíticos podem ser renderizados como menos dependentes de transfusão ou independentes de transfusão por períodos extensos (doze meses ou mais), bem além de 120 dias do ciclo de  
20 vida de células vermelhas sanguíneas. Em adição, contagem de células sanguíneas vermelhas tipo III pode ser aumentada dramaticamente no meio de outros mecanismos de lise de células sanguíneas vermelhas (mediadas por não complemento e/ou mediadas por componentes anteriores, por exemplo, Cb3). Outro exemplo de um resultado surpreendente é que uma variedade de sintomas resolvidos, indicando que níveis de soro NO foram aumentados  
25 o suficiente mesmo na presença de outros mecanismos de lise de células sanguíneas vermelhas. Esses e outros resultados relatados aqui são inesperados e poderiam não ser previstos antes de tratamentos de doenças hemolíticas.

Qualquer composto que se liga a, ou de outra maneira bloqueia a geração e/ou atividade de um ou mais componentes complementares pode ser usado nos presentes métodos.  
30 Uma classe específica de tais compostos que é particularmente útil inclui anticorpos específicos a um componente complementar humano, especificamente anticorpos anti-C5. O anticorpo anti-C5 inibe a cascata de complemento, finalmente, previne lise de células sanguíneas vermelhas ("RBC") pelo complexo de complemento terminal C5b-9. Inibindo e/ou reduzindo a lise de RBCs, os efeitos de PNH e outras doenças hemolíticas (incluindo  
35 sintomas tais como hemoglobinúria, anemia, disfagia, fadiga, disfunção erétil, dor abdominal recorrente e trombose) são eliminados e/ou diminuídos.

Em outra modalidade, formas solúveis das proteínas CD55 e CD59, singularmente

ou em combinação uma com a outra, podem ser administradas a um indivíduo para inibir a cascata de complemento em seu percurso. CD55 inibe no nível de C3, desse modo, prevenindo o progresso adicional da cascata. CD59 inibe o complexo C5b-8 da combinação com C9 para formar o complexo de ataque da membrana (ver discussão abaixo).

5 O sistema complementar atua em conjunto com outro sistema imunológico do corpo para defender contra intrusão de patógenos bacterianos e virais. Existem pelo menos, 25 proteínas envolvidas na cascata de complemento que são encontradas como uma coleção de complexo de proteínas plasmáticas e cofatores de membrana. O sistema complementar alcança suas funções defensivas imunes para interagir em uma série de intricados, mas  
10 clivagem enzimática precisa e eventos de ligação de membrana. A cascata complementar resultante leva à produção de produtos com funções de opsonina, imunorregulatórias e líticas. Um resumo conciso das atividades biológicas associadas com ativação complementar é provido, em The Merck Manual, 16th Edition.

A cascata complementar progride via o percurso clássico, o percurso alternativo ou  
15 o percurso de lectina. Esses percursos compartilham muitos componentes, e enquanto eles diferem em suas etapas iniciais, eles convergem e compartilham os mesmos componentes “complementares terminais” (C5 até C9) responsáveis pela ativação e destruição das células alvo. O percurso complementar clássico é tipicamente iniciado pelo reconhecimento de anticorpo de e ligação a um sítio antigênico em uma célula alvo. o percurso alternativo é comu-  
20 mente independente de anticorpo, epode ser iniciado por certas oléculas em superfícies patogênicas. Adicionalmente, o percurso de lectina é tipicamente iniciado com ligação de lectina de ligação de manose ("MBL") a substratos de manose elevados. Esses percursos convergem no ponto onde o componente complementar C3 é clivado por uma protease ativa para fornecer C3a e C3b.

25 C3a é uma anafilatoxina (ver discussão abaixo). C3b liga-se a bactérias e outras células, bem como a certos vírus e complexos imunes, e marca para remoção de circulação. C3b neste papel é conhecido como opsonina. A função opsônica de C3b é geralmente considerada como sendo a mais importante ação anti-infectiva do sistema complementar. Pacientes com lesões genéticas que bloqueiam a função C3b que tendem a infecção por uma  
30 ampla variedade de organismos patogênicos, enquanto pacientes com lesões na sequência de cascata complementar, isto é, pacientes com lesões que bloqueiam as funções C5 são encontrados como tendendo a infecção por Neisseria, e em seguida apenas de alguma maneira tendem mais (Fearon, in Intensive Review of Internal Medicine, 2nd Ed. Fanta and Minaker, eds. Brigham and Women's and Beth Israel Hospitals, 1983).

35 C3b também forma um complexo com outros componentes exclusivos para cada percurso de convertase C5 alternativa, que cliva C5 para C5a e C5b. C3 é assim relacionado como a proteína central na sequência de reação complementar uma vez que é essencial

para todos os três percursos de ativação (Wurzner, et al., *Complement Inflamm.* 1991, 8:328-340). Esta propriedade de C3b é regulada pelo Fator I de protease do soro C3b para produzir iC3b (C3b inativo). Enquanto ainda opcional como uma opsonina, iC3b pode não formar uma convertase C5 ativa.

O precursor pró-C5 é clivado após aminoácido 655 e 659, para fornecer a cadeia beta como um fragmento terminal de amino (resíduos de aminoácido +1 a 655 da sequência) e a cadeia alfa como um fragmento terminal de carboxila (resíduos de aminoácido 660 a 1658 da sequência), com quatro aminoácidos (resíduos de aminoácido 656-659 da sequência) deletados entre os dois. C5 é glicolisado, com cerca de 1,5-3 de sua massa atribuída a carboidrato. C5 maduro é um heterodímero de uma cadeia alfa 115 kDa de aminoácido 999 que é dissulfito ligado a cadeia beta 75 kDa do aminoácido 655. C5 é encontrado em soro normal em aproximadamente 75  $\mu\text{g/mL}$  (0,4  $\mu\text{M}$ ). C5 é sintetizado como um produto de proteína de precursor de cadeia único de um gene de cópia única (Haviland et al., *J. Immunol.* 1991, 146:362-368). A sequência de cDNA da transcrição deste gene prevê um precursor pro-C5 secretado de 1658 aminoácidos junto com uma sequência líder de 18 aminoácidos (ver, U.S. Pat. No. 6,355,245).

Clivagem de C5 libera C5a, uma anafilatoxina potente e fator quimiotático, e leva a formação do complexo complementar terminal lítico, C5b-9. C5a é clivado a partir da cadeia alfa de C5 por convertase C5 alternativa ou clássica como um fragmento terminal de amino compreendendo os primeiros 74 aminoácidos da cadeia alfa (isto é, resíduos de aminoácidos 660-733 da sequência). Aproximadamente, 20 por cento da massa 11 kDa de C5a é atribuído a carboidrato. O sítio de clivagem para ação de convertase é, ou imediatamente adjacente a, é resíduo de aminoácido 733 da sequência. Um composto que liga-se a, ou adjacente, a este sítio de clivagem iria ter o potencial para bloquear acesso de enzimas de convertase C5 ao sítio de clivagem e desse modo agir como um inibidor complementar.

C5b combina com C6, C7, e C8 para formar o complexo C5b-8 na superfície da célula alvo. A ligação de muitas moléculas C9, o complexo de ataque de membrana ("MAC", C5b-9, complexo complementar terminal—TCC) é formado. Quando números suficientes de MACs se inserem na membrana celular alvo, as aberturas que eles criam (poros MAC) mediam lise osmótica das células alvo. Concentrações menores, não líticas de MACs podem produzir outros efeitos pró-inflamatórios. Em particular, inserção de membrana de números pequenos dos complexos C5b-9 em células endoteliais e plaquetas pode causar ativação de células prejudicial. Em alguns casos a ativação pode preceder lise celular.

C5a e C5b-9 também têm propriedades de ativação de células pleiotrópicas, amplificando a liberação de fatores inflamatórios a jusante. C5 pode também ser ativado por outros meios que não atividade de convertase C5. Digestão de tripsina limitada (Minta and Man, *J. Immunol.* 1977, 119:1597-1602; Wetsel and Kolb, *J. Immunol.* 1982, 128:2209-2216)

e tratamento de amino(Yamamoto and Gewurz, J. Immunol. 1978, 120:2008; Damerau et al., Molec. Immunol. 1989, 26: 1133- 1 142) podem também clivar C5 e produzir C5b ativo.

Como mencionado acima, C3a e C5a são anafilatoxinas. Estes componentes complementares ativados podem acionar desgranulação de mastócitos, que libera histamina e outros mediadores de inflamação, resultando em contração de músculo liso, permeabilidade vascular aumentada, ativação de leucócito, e outros fenômenos inflamatórios incluindo proliferação celular resultando em hiper celularidade. C5a também funciona como um peptídeo quimiotático que serve para atrair granulócitos pró-inflamatórios para o sítio de ativação de complementar.

Qualquer composto que se liga a ou de outra maneira, bloqueia a geração e/ou atividade de qualquer um dos componentes complementares de humano podem ser utilizado de acordo com a presente descrição. Em algumas modalidades, anticorpos específicos para um componente complementar de humano são úteis aqui. Alguns compostos incluem anticorpos direcionados contra componentes complementares C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-9, Fator D, Fator B, Fator P, MBL, MASP-1, e MASP-2, assim prevenindo a geração da atividade anafilatóxica associada com C5a e/ou prevenindo a construção do complexo de ataque de membrana associado com C5b.

Também úteis nos presentes métodos são formas solúveis ou de ocorrência natural de compostos inibitórios complementares tais como CRI, LEX-CRI, MCP, DAF, CD59, Fator H, fator de veneno de cobra, FUT-175, complestatina, e COOH K76. Outros compostos que podem ser utilizados para se ligarem a, ou de outra maneira, bloquear a geração e/ou atividade de qualquer um dos componentes complementares de humano incluem, mas não são limitados a, proteínas, fragmentos de proteína, peptídeos, moléculas pequenas, Aptamers de RNA incluindo ARC 187 (que é comercialmente disponível de Archemix Corp., Cambridge, Mass.), L-Aptamers de RNA, spiegelmers, compostos antissentido, inibidores de protease serina, moléculas que podem ser utilizadas na interferência de RNA (RNAi) tais como RNA de duplo filamento incluindo RNA de pequena interferência (siRNA), inibidores de ácido nucléico bloqueado (LNA), inibidores de ácido nucléico de peptídeo (PNA), etc.

Funcionalidade, uma classe adequada de compostos inibe a clivagem de C5, que bloqueia a geração de moléculas pró-inflamatórias potentes C5a e C5b-9 (complexo complementar terminal). Preferivelmente, o composto não previne a formação de C3b, que subserva funções imunoprotetoras críticas de opsonização e tolerância de complexo imune.

Enquanto previne a geração dessas moléculas de complexo de ataque de membrana, a inibição da cascata complementar em C5 preserva a capacidade para gerar C3b, que é crítica para opsonização de muitos microorganismos patogênicos, assim como para solubilização de complexo imune e tolerância. Reter a capacidade de gerar C3b parece ser particularmente importante como um fator terapêutico na inibição complementar para doenças he-



molíticas, onde a suscetibilidade aumentada para trombose, infecção, fadiga, letargia, e tolerância debilitada de complexos imunes são características clínicas preexistentes do processo da doença.

Particularmente, compostos úteis para uso aqui são anticorpos que reduzem, direta ou indiretamente, a conversão de componente complementar C5 em componente complementar C5a e C5b. Uma classe de anticorpos úteis são aqueles tendo pelo menos um antígeno ligando o sítio e exibindo ligação específica a componente complementar de humano C5. Inibidores complementares particularmente úteis que reduzem a geração de C5a e/ou C5b-9 para maior do que cerca de 30%. Anticorpos anti-C5 que têm a capacidade desejável de bloquear a geração de C5a têm sido conhecidos na técnica desde pelo menos 1982 (Moongkarndi et al., *Immunobiol.* 1982, 162:397; Moongkarndi et al., *Immunobiol.* 1983, 165:323). Anticorpos conhecidos na técnica que são imunorreativos contra fragmentos de C5 ou C5 incluem anticorpos contra a cadeia beta C5 (Moongkarndi et al., *Immunobiol.* 1982, 162:397; Moongkarndi et al., *Immunobiol.* 1983, 165:323; Wurznner et al., 1991, *supra*; Mollnes et al., *Scand. J. Immunol.* 1988, 28:307-312); C5a (ver, por exemplo, Ames et al., *J. Immunol.* 1994, 152:4572-4581, U.S. Pat. No. 4,686,100, e publicação de patente européia No. 0 411 306); e anticorpos contra C5 não humanos (ver, por exemplo, Giclas et al., *J. Immunol. Meth.* 1987, 105:201-209). Anticorpos anti-C5 particularmente úteis são h5G1. 1-mAb, h5G1,1-scFv e outros fragmentos funcionais de h5G1,1. Métodos para a preparação de h5G1,1-mAb, h5G1,1-scFv e outros fragmentos funcionais de h5G1,1 são descritos em U.S. Pat. No. 6,355,245 e "Inhibition of Complement Activity by Humanized Anticorpo anti-C5 and Single Chain Fv", Thomas et al., *Molecular Immunology*, Vol. 33, No. 17/18, pages 1389-1401, 1996, as descrições das quais são incorporadas aqui em sua totalidade para referência. O anticorpo h5G1,1-mAb está atualmente se submentendo a triagens clínicas sob a marca eculizumab.

Hibridomas que produzem anticorpos monoclonais reativos com componente complementar C5 podem ser obtidos de acordo com os ensinamentos de Sims, et al., U.S. Pat. No. 5,135,916. Anticorpos são preparados usando componentes purificados do componente C5 complementar como imunogênios de acordo com métodos conhecidos. De acordo com esta descrição, componente complementar C5, C5a ou C5b é preferivelmente usado como o imunogênio. De acordo com modalidades particularmente preferidas úteis, o imunogênio é a cadeia alfa de C5.

Anticorpos particularmente úteis compartilham as propriedades funcionais requeridas descritas no parágrafo precedente e têm qualquer uma das seguintes características: (1) elas competem para ligar-se a porções de C5 que são especificamente imunorreativas com 5G1,1; (2) elas especificamente ligam-se a cadeia alfa C5 – tal ligação específica, e a competição para ligação pode ser determinada por vários métodos conhecidos na técnica,

incluindo o método de ressonância de superfície de plasma (John et al., J. Immunol. Meth. 1993, 160:191-198); e (3) elas bloqueiam a ligação de C5 a C3 ou C4 (que são componentes da convertase C5).

Os compostos que inibem a produção e/ou atividade de pelo menos um componente complementar podem ser administrados em uma variedade de formas de dosagem unitárias. A dose irá variar de acordo com o composto particular empregado. Por exemplo, anticorpos diferentes podem ter massas e/ou afinidades, e assim requerem níveis de dosagens diferentes. Anticorpos preparados como fragmentos (por exemplo, Fab, F(ab')<sub>2</sub>, scFv) irão também requerer dosagens diferentes daquelas equivalentes a imunoglobinas intactas, assim como eles são de massa consideravelmente menor do que as imunoglobinas intactas, e assim requerem dosagens menores para alcançar os mesmos níveis molares no sangue do paciente.

A dose irá também variar dependendo do modo de administração, os sintomas particulares do paciente sendo tratado, a saúde geral, condição, tamanho, e idade do paciente, e o julgamento do físico versado.

Administração do composto que inibe a produção e/ou atividade de pelo menos um componente complementar irá preferivelmente ser via infusão intravenosa por injeção, mas também ser em forma de aerossol com um veículo farmaceuticamente adequado, injeção subcutânea, oral, ou sublingualmente. Outras rotas de administração podem ser usadas se desejado.

É adicionalmente contemplado que uma terapia de administração pode ser usada em que um composto de inibição de complemento é administrado em combinação com um regime de terapia conhecida para doenças hemolíticas. Tais regimes incluem administração de 1) um ou mais compostos conhecidos para aumentar hematopoiese (por exemplo, por produção ajudada, eliminar células estaminais, eliminação ou destruição de células estaminais) em combinação com 2) um composto selecionado do grupo consistindo em compostos que ligam-se a um ou mais componentes complementares, compostos que bloqueiam a geração de um ou mais componentes complementares and compostos que bloqueiam a atividade de um ou mais componentes complementares. Compostos adequados conhecidos para aumentar hematopoiese incluem, por exemplo, esteróides, imunossuppressores (tais como, ciclosporina), anticoagulantes (tais como, warfarin), ácido fólico, ferro e semelhantes, eritropoietina (EPO), globulina antitímocito (ATG), globulina antilinfócito (ALG), Derivados de EPO, Miméticas de EPO, e darbepoetin alfa (comercialmente disponível como Aranesp® from Amgen, Inc., Thousand Oaks, Calif. (Aranesp® é uma forma feita pelo homem de EPO produzido em células ovarianas de hamster chinês (CHO) por tecnologia de DNA recombinante)). Em modalidades particularmente úteis, eritropoietina (EPO) (um composto conhecido para aumentar hematopoiesis), Derivados de EPO, ou darbepoetin alfa

podem ser administrados em combinação com um anticorpo anti-C5 selecionado do grupo consistindo em h5G1,1-mAb, h5G1,1-scFv e outros fragmentos funcionais de h5G1,1 .

Formulações adequadas para injeção são encontradas em Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa., 17th ed. (1985). Tais formulações devem ser estéreis e não pirogênicas, e geralmente irão incluir um veículo farmacologicamente eficaz, tal como salina, salina tamponada (por exemplo, fosfato tamponado), solução de Hank, solução de Ringer, dextrose/salina, soluções de glicose, e semelhantes. As formulações podem conter substâncias auxiliares farmacologicamente aceitáveis como requerido, tal como, agentes de ajuste de tonicidade, agentes umectantes, agentes bacterianos, conservantes, estabilizantes, e semelhantes.

A presente descrição contempla métodos para reduzir hemólise em um paciente afetado com uma doença hemolítica administrando um ou mais compostos que ligam-se a, ou de outra maneira, bloqueiam a geração e/ou atividade de um ou mais componentes complementares. Reduzir hemólise significa que a duração de tempo que uma pessoa sofre de hemólise é reduzida para cerca de 25% ou mais. A eficácia do tratamento pode ser avaliada de qualquer uma de várias maneiras conhecidas por aqueles versados na técnica para determinar o nível de hemólise em um paciente. Um método quantitativo para detectar hemólise é observar as ocorrências de hemoglobinúria. Quase surpreendentemente, o tratamento de acordo com os presentes métodos reduz hemólise como determinado por uma redução rápida na hemoglobinúria.

Uma maneira mais qualitativa de medir hemólise é medir níveis de desidrogenase de lactato (LDH) no fluxo sanguíneo do paciente. LDH catalisa a interconversão de piruvato e lactato. Células sanguíneas vermelhas metabolizam glicose para lactato, que é liberado no sangue e é tomado pelo fígado. Níveis de LDH são usados como um indicador objetivo de hemólise. Como aqueles versados na técnica irão apreciar, medições de níveis de LDH "limite superior de normal" irão variar de laboratório para laboratório dependendo de um número de fatores incluindo ensaio particular empregado e a maneira precisa em que o ensaio é conduzido. Falando de modo geral, entretanto, os presentes métodos podem reduzir hemólise em um paciente afetado com uma doença hemolítica como refletido por uma redução de níveis de LDH nos pacientes com 20% do limite superior dos níveis de LDH normais. Alternativamente, os presentes métodos podem reduzir hemólise em um paciente afetado com uma doença hemolítica como refletido por uma redução de níveis de LDH nos pacientes de mais do que 50% do nível de LDH de pré-tratamento do paciente, preferivelmente maior do que 65% do nível de LDH de pré-tratamento do paciente, o mais preferivelmente maior do que 80% do nível de LDH de pré-tratamento do paciente.

Outra medição quantitativa de uma redução em hemólise é a presença de células sanguíneas vermelhas deficientes de GPI (Células sanguíneas vermelhas de PNH). Como

aqueles versados na técnica irão apreciar, células sanguíneas vermelhas de PNH não têm expressão de proteína de âncora de GPI sobre a superfície celular. A proporção de células deficientes de GPI (células PNH) pode ser determinada por citometria de fluxo usando, por exemplo, a técnica descrita em Richards, et al., Clin. Appl. Immunol. Rev., vol. 1, pages 315-330, 2001. o número absoluto de células PNH pode ser em seguida determinado. Os presentes métodos podem reduzir hemólise em um paciente afetado com doença hemolítica por um aumento nas células sanguíneas vermelhas de PNH. Preferivelmente um aumento nos níveis de célula sanguínea vermelha de PNH no paciente de mais do que 25% da contagem de célula sanguínea vermelha total ser alcançada, mais preferivelmente um aumento nos níveis de célula sanguínea vermelha de PNH nos pacientes de mais do que 50% da contagem de célula sanguínea vermelha total ser alcançada, o mais preferivelmente um aumento nos níveis de célula sanguínea vermelha de PNH nos pacientes de mais do que 75% da contagem de célula sanguínea vermelha total ser alcançada.

Métodos para reduzir um ou mais sintomas associados com PNH ou outras doenças hemolíticas estão também dentro do escopo da presente invenção. Tais sintomas incluem, por exemplo, dor abdominal, fadiga, e dispnéia. Os sintomas podem ser o resultado direto da lise de células sanguíneas vermelhas (por exemplo, hemoglobinúria, anemia, fadiga, baixa contagem de célula sanguínea vermelha, etc.) ou os sintomas podem resultar de baixos níveis de óxido nítrico (NO) no fluxo sanguíneo do paciente (por exemplo, dor abdominal, disfunção erétil, disfagia, trombose, etc.). Foi recentemente relatado que pacientes com mais do que 40% de clone de granulócito de PNH têm uma incidência aumentada de trombose, dor abdominal, disfunção erétil e disfagia, indicando uma alta taxa hemolítica (ver Moyo et al., British J. Haematol. 126: 133-138 (2004)).

Em modalidades particularmente úteis, os presentes métodos proveem uma redução em um ou mais sintomas associados com PNH ou outras doenças hemolíticas em um paciente tendo uma contagem de plaquetas em excesso de 30,000 por microlitro (um paciente hipoplástico), preferivelmente em excesso de 75.000 por microlitro, o mais preferivelmente em excesso de 150,000 por microlitro. Em outras modalidades, os presentes métodos proveem uma redução em um ou mais sintomas associados com PNH ou outras doenças hemolíticas em um paciente onde a proporção de PNH tipo III em células sanguíneas vermelhas do conteúdo de células sanguíneas vermelhas total do indivíduo é maior do que 10%, preferivelmente maior do que 25%, o mais preferivelmente em excesso de 50%. Em ainda outras modalidades, os presentes métodos proveem uma redução em um ou mais sintomas associados com PNH ou outras doenças emolíticas em um paciente tendo uma contagem de reticulócitos em excesso de  $80 \times 10^9$  por litro, mais preferivelmente em excesso de  $120 \times 10^9$  por litro, o mais preferivelmente em excesso de  $150 \times 10^9$  por litro. Pacientes nas faixas mais preferíveis citadas acima tem medula óssea ativa e irão produzir números

adequados de células sanguíneas vermelhas. Enquanto em um paciente afetado com PNH ou outras doenças hemolíticas as células sanguíneas vermelhas podem ser defectivas de uma ou mais formas (por exemplo, deficiente de GPI), os presentes métodos são particularmente úteis em proteger tais células da lise que resulta da ativação complementar. Assim, os pacientes dentro das faixas preferidas se beneficiam mais dos presentes métodos.

Em um aspecto, um método para reduzir fadiga é contemplado, o método incluindo a etapa de administrar a um indivíduo tendo ou sendo suscetível a uma doença hemolítica um composto que liga-se a ou de outra maneira bloqueia a geração e/ou atividade de um ou mais componentes complementares. Reduzir fadiga significa que a duração de tempo que uma pessoa sofre de fadiga é reduzida para cerca de 25% ou mais. Acredita-se que fadiga seja um sintoma associado com hemólise intravascular como a fadiga demonstra quando hemoglobinúria se resolve mesmo quando a anemia persiste. Reduzindo a lise de células sanguíneas vermelhas, os presentes métodos reduzem a fadiga. Pacientes dentro das faixas acima mencionadas de células sanguíneas vermelhas do tipo III, reticulócitos e plaquetas se beneficiam mais dos presentes métodos.

Em outro aspecto, um método para reduzir dor abdominal é contemplado, o método incluindo a etapa de administrar a um indivíduo tendo ou sendo suscetível a uma doença hemolítica um composto que liga-se a, ou de outra maneira, bloqueia a geração e/ou atividade de um ou mais componentes complementares. Reduzir dor abdominal significa que a duração de tempo que uma pessoa sofre de dor abdominal é reduzida para cerca de 25% ou mais. Dor abdominal é um sintoma resultante da incapacidade de níveis de haptoglobina naturais de um paciente processar todas as hemoglobinas livres no fluxo sanguíneo como um resultado de hemólise intravascular, resultando na captura de NO e distonia intestinal e espasmos. Reduzindo a lise de células sanguíneas vermelhas, os presentes métodos reduzem a quantidade de hemoglobina livre no fluxo sanguíneo, desse modo reduzindo dor abdominal. Pacientes dentro das faixas preferidas acima mencionadas de células sanguíneas vermelhas do tipo III, reticulócitos e plaquetas se beneficiam mais dos presentes métodos.

Em outro aspecto, um método para reduzir disfagia é contemplado, o método incluindo a etapa de administrar a um indivíduo tendo ou sendo suscetível a uma doença hemolítica um composto que liga-se a, ou de outra maneira, bloqueia a geração e/ou atividade de um ou mais componentes complementares. Reduzir disfagia significa que a duração de tempo que uma pessoa tem um ataque de disfagia é reduzida para cerca de 25% ou mais. Disfagia é um sintoma resultante da incapacidade de níveis de haptoglobina naturais de um paciente em processar todas as hemoglobinas livres liberadas no fluxo sanguíneo como um resultado de hemólise intravascular, resultando na captura de NO e espasmos do esôfago. Reduzindo a lise de células sanguíneas vermelhas, os presentes métodos reduzem a

quantidade de hemoglobina livre no fluxo sanguíneo, desse modo reduzindo disfigia. Pacientes dentro das faixas preferidas acima mencionadas de células sanguíneas vermelhas do tipo III, reticulócitos e plaquetas se beneficiam mais dos presentes métodos.

5 Em ainda outro aspecto, um método para reduzir disfunção erétil é contemplado, o método incluindo a etapa de administrar a um indivíduo tendo ou sendo suscetível a uma doença hemolítica um composto que se liga ou de outra maneira bloqueia a geração e/ou atividade de um ou mais componentes complementares. Reduzir disfunção erétil significa que a duração de tempo que uma pessoa sofre de disfunção erétil é reduzida para cerca de 25% ou mais. Acredita-se que disfunção erétil seja um sintoma associado com captura de NO por hemoglobina livre liberada no fluxo sanguíneo como um resultado de hemólise intravascular. Reduzindo a lise de células sanguíneas vermelhas, os presentes métodos reduzem a quantidade de hemoglobina livre no fluxo sanguíneo, desse modo aumentando os níveis de soro de NO e reduzindo disfunção erétil. Pacientes dentro das faixas preferidas acima mencionadas de células sanguíneas vermelhas do tipo III, reticulócitos e plaquetas se beneficiam mais dos presentes métodos.

15 Em ainda outro aspecto, um método para reduzir hemoglobinúria é contemplado, o método incluindo a etapa de administrar a um indivíduo tendo ou sendo suscetível a uma doença hemolítica um composto que liga-se a, ou de outra maneira, bloqueia a geração e/ou atividade de um ou mais componentes complementares. Reduzir hemoglobinúria significa 20 uma redução no número de vezes que uma pessoa tem uma urina mais escura, marrom ou vermelha, em que a redução é tipicamente cerca de 25% ou mais. Hemoglobinúria é um sintoma resultante da incapacidade de níveis de haptoglobinaa naturais de um paciente em processar toda a hemoglobina livre liberada no fluxo sanguíneo como um resultado de hemólise intravascular. Reduzindo a lise de células sanguíneas vermelhas, os presentes métodos reduzem a quantidade de hemoglobina livre no fluxo sanguíneo e urina desse modo reduzindo hemoglobinúria. Quase surpreendentemente, a redução em hemoglobinúria ocorre rapidamente. Pacientes dentro das faixas preferidas acima mencionadas de células sanguíneas vermelhas do tipo III, reticulócitos e plaquetas se beneficiam mais dos presentes métodos.

30 Em ainda outro aspecto, um método para reduzir trombose é contemplado, o método incluindo a etapa de administrar a um indivíduo tendo ou sendo suscetível a uma doença hemolítica um composto que liga-se a, ou de outra maneira, bloqueia a geração e/ou atividade de um ou mais componentes complementares. Reduzir trombose significa que a duração de tempo que um passoa tem ataque de trombose é reduzida para cerca de 25% ou mais ou que a frequência do ataque de trombose é reduzida para cerca de 25% ou mais 35 durante um período de um ou mais anos. Trombose é um sintoma associado com captura de NO por hemoglobina livre liberada no fluxo sanguíneo como um resultado de hemólise

intravascular. Reduzindo a lise de células sanguíneas vermelhas, os presentes métodos reduzem a quantidade de hemoglobina livre no fluxo sanguíneo, desse modo aumentado os níveis de soro de NO e reduzindo trombose.

5       Acredita-se que trombose seja uma etiologia multi-fatorial incluindo captura de NO por hemoglobina livre, exposição de superfícies pró-trombóticas a partir de membranas de célula sanguínea vermelha lisada, e mudanças na superfície do endotélio por heme livre de célula. A liberação intravascular de hemoglobina livre pode diretamente contribuir para trombose de pequenos vasos. NO tem sido mostrado para inibir agregação de plaqueta, induzir desagregação de plaquetas agragadas e inibir adesão de plaquetas. Inversamente, captura  
10       de NO por hemoglobina ou redução de geração de NO pela inibição de metabolismo de arginina resulta em um aumento na agregação de plaqueta. Reduzindo a lise de células sanguíneas vermelhas, os presentes métodos reduzem a quantidade de hemoglobina livre no fluxo sanguíneo, desse modo aumentado os níveis de soro de NO e reduzindo trombose.

      Em modalidades particularmente úteis, os presentes métodos reduzem trombose,  
15       especialmente em pacientes tendo uma contagem de plaquetas em excesso de 30,000 por microlitro, preferivelmente em excesso de 75.000 por microlitro, o mais preferivelmente em excesso de 150,000 por microlitro. Em outras modalidades, os presentes métodos reduzem trombose em pacientes onde a proporção de PNH tipo III em células sanguíneas vermelhas do conteúdo de célula sanguínea vermelha total do indivíduo é maior do que 1%, preferivel-  
20       mente maior do que 10%, mais preferivelmente maior do que 25%, mesmo mais preferivelmente em excesso de 50%, e o mais preferivelmente em excesso de 75% (ver, por exemplo, Hall et al., Blood 102:3587-3591 (2003); Audebert et al., J. Neurol. 252:1379-1386 (2005)). Em ainda outras modalidades, os presentes métodos reduzem trombose de transfusão em pacientes tendo uma contagem de reticulócitos em excesso de 80 x 10 por litro, mais preferivel-  
25       mente em excesso de 120 x 10<sup>9</sup> por litro, o mais preferivelmente em excesso de 150 x 10<sup>9</sup> por litro.

      Em ainda outro aspecto, um método para reduzir anemia é contemplado, o método incluindo a etapa de administrar a um indivíduo tendo ou sendo suscetível a uma doença hemolítica um composto que liga-se a, ou de outra maneira, bloqueia a geração e/ou ativi-  
30       dade de um ou mais componentes complementares. reduzir anemia significa que a duração de tempo que um pessoa tem anemia é reduzida para cerca de 25% ou mais. Anemia em doenças hemolíticas resulta da capacidade reduzida do sangue de portar oxigênio devido a perda de massa celular sanguínea vermelha. Reduzindo a lise de células sanguíneas vermelhas, os presentes métodos ajudam a aumentar os níveis de célula sanguínea vermelha,  
35       desse modo reduzindo anemia.

      Em outro aspecto, um método para aumentar a contagem de célula sanguínea vermelha endógena em um paciente afetado com doença hemolítica. Aumentando a conta-

gem de RBC do paciente, fadiga, anemia e a necessidade do paciente para transfusões de sangue são reduzidas. A redução em transfusões pode ser em frequência de transfusões, quantidade de unidades sanguíneas transfundidas, ou ambos.

O método para aumentar a contagem de célula sanguínea vermelha em um paciente afetado com uma doença hemolítica inclui a etapa de administrar um composto que liga-se a, ou de outra maneira, bloqueia a geração e/ou atividade de um ou mais componentes complementares a um paciente afetado com uma doença hemolítica. Em modalidades particularmente úteis, os presentes métodos aumentam a contagem de célula sanguínea vermelha em um paciente afetado com uma doença hemolítica, especialmente pacientes tendo uma contagem de plaqueta em excesso de 30,000 por microlitro, preferivelmente em excesso de 75.000 por microlitro, o mais preferivelmente em excesso de 150,000 por microlitro. Em outras modalidades, os presentes métodos aumentam a contagem de célula sanguínea vermelha em um paciente afetado com uma doença hemolítica onde a proporção de PNH tipo III em células sanguíneas vermelhas do conteúdo de célula sanguínea vermelha total do indivíduo é maior do que 1%, preferivelmente maior do que 10%, mais preferivelmente maior do que 25%, mesmo mais preferivelmente em excesso de 50%, e o mais preferivelmente em excesso de 75%. Em ainda outras modalidades, os presentes métodos aumentam a contagem de célula sanguínea vermelha em um paciente afetado com uma doença hemolítica tendo uma contagem de reticulócitos em excesso de  $80 \times 10^9$  por litro, mais preferivelmente em excesso de  $120 \times 10^9$  por litro, o mais preferivelmente em excesso de  $150 \times 10^9$  por litro. Em algumas modalidades, os métodos da presente descrição podem resultar em uma diminuição na frequência de transfusões para cerca de 50%, tipicamente uma diminuição na frequência de transfusões para cerca de 70%, mais tipicamente uma diminuição na frequência de transfusões para cerca de 90%.

Em ainda outro aspecto, a presente descrição contempla um método de renderizar um indivíduo afetado com uma doença hemolítica menos dependente de transfusões ou independente de transfusão administrando um composto ao indivíduo, o composto sendo selecionado do grupo consistindo em compostos que ligam-se a um ou mais componentes complementares, compostos que bloqueiam a geração de um ou mais componentes complementares and compostos que bloqueiam a atividade de um ou mais componentes complementares. Como aqueles versados na técnica irão apreciar, o ciclo de vida normal para uma célula sanguínea vermelha é de cerca de 120 dias. O tratamento para seis meses ou mais é requerido para a avaliação de transfusão independente dada a longa meia vida de células sanguíneas vermelhas. Foi inesperadamente descoberto que em alguns pacientes a independência de transfusão pode ser mantida por doze meses ou mais, em alguns casos mais do que quatro anos, além do ciclo de vida de 120 dias de células sanguíneas vermelhas. E modalidades particularmente úteis, os presentes métodos proveem dependência



diminuída em transfusões ou independência de transfusão em um paciente afetado com uma doença hemolítica, especialmente pacientes tendo uma contagem de plaqueta em excesso de 30,000 por microlitro, preferivelmente em excesso de 75.000 por microlitro, o mais preferivelmente em excesso de 150,000 por microlitro. Em outras modalidades, os presentes métodos proveem dependência diminuída em transfusões ou independência de transfusão em um paciente afetado com uma doença hemolítica onde a proporção de PNH tipo III de células sanguíneas vermelhas do conteúdo de célula sanguínea vermelha total do indivíduo é maior do que 1%, preferivelmente maior do que 10%, mais preferivelmente maior do que 25%, mesmo mais preferivelmente em excesso de 50%, e o mais preferivelmente em excesso de 75%. Em ainda outras modalidades, os presentes métodos proveem dependência diminuída em transfusões ou independência de transfusão em um paciente afetado com uma doença hemolítica tendo uma contagem de reticulócitos em excesso de  $80 \times 10^9$  por litro, mais preferivelmente em excesso de  $120 \times 10^9$  por litro, o mais preferivelmente em excesso de  $150 \times 10^9$  por litro.

Métodos para aumentar os níveis de óxido nítrico (NO) em um paciente tendo PNH ou alguma outra doença hemolítica estão dentro do escopo da presente invenção. Esses métodos para aumentar níveis de NO incluem a etapa de administrar a um indivíduo tendo ou sendo suscetível a uma doença hemolítica um composto que liga-se a, ou de outra maneira, bloqueia a geração e/ou atividade de um ou mais componentes complementares. Baixos níveis de NO aumentam em pacientes afetados com PNH ou outras doenças hemolíticas como um resultado de captura de NO por hemoglobina livre liberada no fluxo sanguíneo como um resultado de hemólise intravascular. Reduzindo a lise de células sanguíneas vermelhas, os presentes métodos reduzem a quantidade de hemoglobina livre no fluxo sanguíneo, desse modo aumentando os níveis de soro de NO. Em modalidades particularmente úteis, homeostase de NO é reabilitada como evidenciada por uma resolução de sintomas atribuíveis a deficiências de NO.

Sem pretender limitar-se de qualquer maneira, o presente pedido será mais completamente descrito pelos seguintes exemplos.

#### EXEMPLOS

##### EXEMPLO 1

Onze pacientes participaram de triagem de terapia para avaliar os efeitos de anti-corpo anti-C5 em PNH e sintomas associados com o mesmo. Pacientes com PNH eram dependentes de transfusão e hemolíticos. Os pacientes foram definidos como dependentes de transfusão com um histórico de quatro ou mais transfusões dentro de doze meses. O número médio de transfusões dentro do grupo de paciente foi nove nos doze meses anteriores. O número médio de unidades de transfusões usado nos doze meses anteriores foi vinte dois para o paciente.

Durante o curso de quatro semanas, cada um dos 11 pacientes receberam 600 mg de infusão intravenosa semanalmente de anticorpo anti-C5 por aproximadamente trinta minutos. O anticorpo anti-C5 específico usado no estudo foi eculizumab. Pacientes receberam 900 mg de eculizumab 1 semana depois e em seguida 900 mg em uma base bi-semanalmente. As primeiras doze semanas do estudo constituiram o estudo piloto. Seguinte a finalização do estudo de doze semanas da fase aguda inicial, todos os pacientes participaram de um estudo de extensão conduzido para um total de 64 semanas. Dez dos onze pacientes participaram em um estudo de extensão conduzido para um total de dois anos.

O efeito de tratamentos com anticorpo anti-C5 em PNH tipo III de células sanguíneas vermelhas ("RBCs") foi testado. "PNH tipo" refere-se a densidade de proteínas GPI ancoradas expressas na superfície celular. Tipo I é expressão normal, tipo II é expressão intermediária, e tipo III não tem expressão de proteína de âncor GPI sobre a superfície celular. A proporção de células deficientes em GPI é determinada pela citometria de fluxo em uma maneira descrita em Richards, et al., Clin. Appl. Immunol. Rev., vol.1, pages 315-330, 2001. Quando comparado a condições de pré-terapia, PNH Tipo III de células sanguíneas vermelhas aumentou mais do que 50% durante o estudo de extensão. O aumento a partir de um valor médio de pré-estudo de 36,7% de todas as células sanguíneas vermelhas para um valor médio de 64 semanas de 58,4% de tipo III em células sanguíneas vermelhas indicou que hemólise foi diminuída severamente. Ver tabela 1, abaixo. Terapia com Eculizumab protegeu PNH tipo III de RBCs a partir de lise mediada por complemento, prolongando a sobrevivência celular. Esta proteção das células afetadas por PNH reduziu a necessidade por transfusões, paroxismos e hemólise geral em todos os pacientes na triagem.

Tabela 1: Tratamento Pré e Pós-Eculizumab de Populações Celulares de PNH em Todos os Pacientes

Célula PNH Tipo	Proporção de Células PNH (%)			p-valor <sup>a</sup>
	baselina	12 semanas	64 semanas	
Tipo III RBCs	36.7 +/- 5.9	59.2 +/- 8.0	58.4 +/- 8.5	0.005
Tipo II RBCs	5.3 +/- 1.4	7.5 +/- 2.1	13.2 +/- 2.4	0.013
Tipo III WBCs	92.1 +/- 4.6	89.9 +/- 6.6	91.1 +/- 5.8	N.S.
Tipo III plaquetas	92.4 +/- 2.4	93.3 +/- 2.8	92.8 +/- 2.6	N.S.

<sup>a</sup> Comparação de mudança de média de baselina para 64 semanas

Durante o curso do estudo de extensão de dois anos, foi descoberto qu ecélulas vermelhas PNH com um deficiência completa de proteína ligadas por GPI (células vermelhas tipo III), progressivamente aumentou durante o período de tratamento de uma méida de 36,7% a 58,9% ( $p=0,001$ ) enquanto células vermelhas parcialmente deficientes (tipo II) aumentaram de 5,3% a 8,7% ( $p=0,01$ ). Não existiu mudança concomitante na proporção de neutrófilos PNH em qualquer um dos pacientes durante terapia com eculizumab, indicando que o aumento na proporção de células vermelhas PNH foi devido a redução na hemólise e nas transfusões em vex de uma mudança nos clones de PNH prpriamente ditos.

O efeito de tratamentos com anticorpo anti-C5 em níveis de dehidrogenase de lactato ("LDH") foi medido em todos os onze pacientes. LDH catalisa a interconversão de piruvato e lactato. Células sanguíneas vermelhas metabolizam glicose para lactatoque é liberado no sangue e então tomado pelo fígado. Níveis de LDH são usados como um indicador objetivo de hemólise. Os níveis de LDH são dimunuídos para maior do que 80% quando comparados a níveis de pré-tratamento. Os níveis de LDH foram baixados a partir de um valor médio de pré-estudo de 3111 U/L para um valor médio de 594 U/L durante o estudo piloto e um valor médio de 622 U/L após 64 semanas ( $p=0,002$  por 64 semanas em comparação; ver figuras 1 A e 1 B).

Similarmente, níveis de aminotransferase de aspartato, outro marcador de hemólise de células sanguíneas vermelhas, diminuídas de um valor de baselina médio de 76 IU/L a 26 IU/L e 30 IU/L durante as 12 e 64 semanas de tratamento, respectivamente ( $p=0,02$  por 64 semanas em comparação). Níveis de haptoglobina, hemoglobina e bilirrubina, e vários reticulócitos, não mudam significativamente de valores de pré-estudo durante as 64 semanas do período de tratamento.

Taxas de paroxismo foram medidas e comparadas a níveis de pré-tratamento. Paroxismo como usado nesta descrição é definido como incidências de urina colorida escura com um nível de colorímetris de 6 de mais em uma escala de 1-10. A figura 2 mostra a escala de cor de urina feita para monitorar a incidência de paroxismo de hemoglobinúria em pacientes com NH antes e durante o tratamento. Quando comparado a níveis de pré-tratamento, a taxa de percentagem de paroxismo foi reduzida por 93% (ver, FIGURA 3) de 3,0 de paroxismo por paciente por mês antes de tratamento com eculizumab para 0,1 de paroxismo por paciente por mês durante as 12 semanas iniciais e 0,2 de paroxismo por paciente por mês durante as 64 semanas de tratamento (FIGURA 3 ( $p<0,001$ )).

Atividade hemolítica do soro em nove dos onze pacientes foi completamente bloqueada pelo período de 64 semanas de tratamento com níveis de eculizumab variando em equilíbrio de aproximadamente 35  $\mu\text{g/mL}$  a 350  $\mu\text{g/mL}$ . Durante o estudo de extensão, 2 pacientes não sustentaram níveis de eculizumab necessários para bloquear de forma consistente o complemento. Esta ruptura na atividade hemolítica do soro ocorreu nos últimos 2

dias do 14º dia de intervalo de dosagem, um padrão que foi repetido entre doses múltiplas. Em um dos pacientes, como visto na figura 4, perfuração de bloqueios complementares resultou em hemoglobinúria, disfagia, e LDH aumentado e AST, que se correlacionou com o retorno da atividade hemolítica do soro. Na próxima dose, sintomas resolvidos (FIGURA 5) e redução no intervalo de dosagem de 900 mg a cada 14 dias para 900 mg a cada 12 dias resultaram em um reganho de controle complementar que foi mantido durante o estudo de extensão de 64 semanas em ambos os pacientes. Este paciente mostrou uma resolução de 24 horas de disfagia e hemoglobinúria. Uma redução no intervalo de dosagem de 14 a 12 dias foi suficiente para manter níveis de eculizumab acima de 35 µg/mL e eficaz e consistentemente bloquearam a atividade hemolítica do soro para o restante do estudo de extensão para ambos os pacientes.

A necessidade do paciente para transfusões também foi reduzida pelo tratamento com eculizumab. A FIGURA 6a compara o número de unidades de transfusão requeridas por paciente por mês, antes e durante o tratamento com um anticorpo anti-C5 para paciente citopênicos, enquanto a FIGURA 6b compara o número de unidades de transfusão requeridas por paciente por mês, antes e durante tratamento com um anticorpo anti-C5 para pacientes não citopênicos. Uma redução significativa na necessidade de transfusão também foi notado no grupo inteiro (taxas de transfusão médias diminuídas de 2,1 unidades por paciente por mês durante um período de 1 ano antes de tratamento a 0,6 unidades por paciente por mês durante as 12 semanas iniciais e 0,5 unidades por paciente por mês durante o período de tratamento de 64 semanas combinadas), com pacientes não citopênicos se beneficiando mais. De fato, quatro dos pacientes não trombocitopênicos com contagens de plaquetas normais (>150,000 por microlitro) se tornaram independente de transfusão durante as 64 semanas de tratamento.

O efeito de eculizumab administrado em combinação com eritropoietina (EPO) também foi avaliado em um paciente trombocitopênico. EPO (NeoRecormon™, Roche Pharmaceuticals, Basel, Switzerland) foi administrado em uma quantidade de 18,000 LU. Três vezes por semana começando na semana 23 do estudo. Como mostrado na FIGURA 7, a frequência de transfusões requeridas por este paciente foi significativamente reduzida, e brevemente interrompida.

Para o estudo de extensão de dois anos, 10 dos 11 pacientes apartir do estudo de 3 meses iniciais continuaram a receber 900 mg de eculizumab uma semana sim e outra não. (um paciente descontinuou a terapia com eculizumab após 23 meses.) seis dos 11 pacientes tiveram contagem de palqueta normal (sem evidência clinica de falha na medula) ao passo que 5 dos 11 tiveram baixa contagem de plaqueta. Para o paciente que descontinuou a terapia com eculizumab após 23 meses, hemólise intravascular foi controlada de forma bem sucedida por eculizumab, mas o paciente continuou a ser transfundido mesmo após

terapia com eritropoietina. Este paciente teve a hipoplasia mais severa no início da terapia com eculizumab com uma contagem de plaqueta abaixo de  $30 \times 10^9/L$ , sugerindo que as transfusões subsequentes fossem provavelmente um resultado de base de falha de medula óssea.

Resultados dos dois anos de estudo de extensão também demonstraram que existiu uma diminuição estatisticamente significativa em exigências de transfusão para os pacientes. Três pacientes permaneceram independentes de transfusão durante o período de tratamento de dois anos interiro, e quatro pacientes citopênicos se tornaram independentes de transfusão, três seguindo tratamento com EPO (NeoRecormon™). A redução nas exigências de transfusão demonstrou ser mais considerável em pacientes com uma reserva de medula boa.

Níveis farmacodinâmicos foram medidos e registrados de acordo com doses de eculizumab doses. A análise farmacodinâmica de eculizumab foi determinada medindo a capacidade das amostras de soro do paciente de lisar eritrócitos de galinha em um ensaio hemolítico complementar de soro de humano total padrão. Brevemente, amostras de paciente ou soro de controle humano (Quidel, San Diego, Calif.) foi diluído a 40% vol/vol com veronal de gelatina-salina tamponada (GVB2+, Advanced Research technologies, San Diego, Calif.) e adicionado em triplicata a uma placa de 96 cavidades tal que a concentração final do soro em cada cavidade foi 20%. A placa foi então incubada a temperatura ambiente enquanto os eritrócitos de galinha (Lampire Biologies, Malvern, Pa.) foram lavados. Os eritrócitos de galinha foram sensibilizados pela adição de anticorpo policlonal de célula sanguínea vermelha anti-galinha (0,1% vol/vol). As células foram em seguida lavadas e ressuspensas em GVB2+ tampão. Eritrócitos de galinha ( $2,5 \times 10^6$  células/ $30 \mu L$ ) foram adicionados às placas contendo soro de controle humano ou amostras de paciente e incubados a  $37^\circ C$  por 30 min. Cada placa continha seis cavidades adicionais de eritrócitos de galinha preparados de forma idênticas das quais quatro cavidades foram incubadas com 20% de soro contendo 2 mM EDTA como o espaço e duas cavidades foram incubadas com GVB2+ tampão sozinha como um controle negativo para hemólise espontânea. A placa foi em seguida centrifugada e o sobrenadante transferido para uma nova placa de fundo plano redondo de 96 cavidades. Liberação de emoglobina foi determinada a OD 415 nm usando um leitor de microplaca. A porcentagem da hemólise foi determinada usando a seguinte fórmula: Porcentagem de Hemólise =  $100 \times ((\text{amostra de paciente OD} - \text{espaço OD}) / (\text{controle de soro humano OD} - \text{espaço OD}))$ .

O gráfico das farmacodinâmicas (FIGURA 8), o estudo dos efeitos fisiológicos, mostram a porcentagem de atividade hemolítica do soro (isto é, a porcentagem de lise celular) sobre o tempo. A lise celular foi drasticamente reduzida na maioria dos pacientes para abaixo de 0% de atividade hemolítica normal do soro enquanto sob tratamento com eculizumab.

Dois pacientes exibiram uma quebra na atividade hemolítica, mas bloqueio complementar foi permanentemente restaurado reduzindo o intervalo de dosagem para 12 dias (ver, FIGURA 4).

Melhora de qualidade de vida também foi avaliada usando os questionários da Organização Europeia para Pesquisa e Tratamento de Núcleo de Câncer (<http://www.eortc.be>) ("EORTC QLC-C30"). Cada um dos pacientes participantes completou questionário QLC-30 antes e durante a terapia com eculizumab. Melhorias gerais foram observadas no status de saúde global, funcionalidade física, funcionalidade de execução, funcionalidade emotiva, funcionalidade cognitiva, fadiga, dor, dispnéia e insônia. (ver FIGURA 9).

Pacientes nos dois anos de estudo sofreram uma redução nos sintomas adversos associados com PNH. Por exemplo, como mostrado na figura 10, existiu uma diminuição demonstrada de dor abdominal, disfagia, e disfunção erétil após administração de eculizumab naqueles pacientes reportando aqueles sintomas antes da administração de eculizumab.

## EXEMPLO 2

### *Descrição de Estudos Clínicos*

A segurança e eficácia de eculizumab foi avaliada em três estudos separados incluindo um estudo de 3 fases por 26 semanas controlado por placebo, de ligação dupla aleatório em 87 pacientes (estudo C04-001), um estudo de 3 fases por 52 semanas de rótulo aberto em 97 pacientes (Estudo C04-002), e um estudo de 2 fases por 12 semanas de rótulo aberto em 11 pacientes (Estudo C02-001; este estudo teve estudos de extensão específicos de dois estudos [E02-001 e X03-001] totalizando 156 semanas adicionais). Todos os pacientes que completaram os estudos C04-001, C04-002, ou C02-001/E02-001/X03-001 de forma bem sucedida foram eleitos para se registrarem em um estudo de extensão de 3 fases por 104 semanas de rótulo aberto avançado (Estudo E05-001) que é antecipado para registrar aproximadamente 190 pacientes. O estudo E05-001 provê uma segurança em longo prazo adicional e dados eficazes de eculizumab na população total de pacientes de PNH e inclui a coleção de taxas de evento tromboembólico com tratamento com eculizumab através de grupos de tratamento com eculizumab agrupados a partir de estudos principais descritos acima. O ponto final secundário pré-especificado de taxa de evento tromboembólico no Estudo E05-001 foi projetado para avaliar a taxa de evento tromboembólico em cada um dos pacientes do Estudo E05-001 antes de tratamento com eculizumab, durante tratamento com eculizumab em cada um dos pacientes do Estudo C04-001, C04-002, e C02-001/E02-001/X03-001, e durante tratamento com eculizumab na população de paciente total para todos os estudos. Taxas de evento tromboembólico foram capturadas como os maiores eventos vasculares adversos (MAVE, ver tabela 2). Em todo os estudos, pacientes tratados com eculizumab foram administrados com 600 mg do fármaco do estudo a cada semana por

4 semanas, 900 mg na semana 5, e em seguida uma dose de 900 mg a cada  $14 \pm 2$  dias para a duração do estudo.

No estudo C04-001, C04-002, e C02-001/E02-001/X03-001, o tratamento com ecuzumab foi associado com melhoras altamente estatísticas e clinicamente significantes nos pontos finais primários e secundários pré-especificados.

Tabela 2: LISTA DE MAIORES EVENTOS VASCULARES ADVERSOS (MAVE)

Tromboflebite / trombose de veia profunda	Trombose de veia renal
Embolia pulmonar	Trombose de veia mesentérica
Acidente cerebrovascular	Trombose de veia porta (Budd-Chiari)
Amputação	Gangrena
Infarto do miocárdio	Oclusão vascular periférica aguda
Ataque isquêmico transiente	Morte súbita
Angina instável	

*Efeito de Eculizumab sobre os Percursos Patofisiológicos que Levam a Trombose Clinicamente Sintomática*

Eventos Tromboembólicos (TE) são frequentemente atados diretamente à hemólise intravascular em PNH. Hemólise intravascular leva ao acúmulo de hemoglobina livre no plasma que foi demonstrada como óxido nítrico esgotado e subsequentemente leva a formação de tromba.

Tratamento com eculizumab marcadamente reduz hemólise intravascular, como medido por uma diminuição em LDH médio, de 2,042 U/L de pré-tratamento a 261 U/L a 26 semanas com tratamento com eculizumab nos estudos C04-001 e C04-002 combinados ( $P < 0,001$ ).

O tratamento com eculizumab marcadamente reduz níveis de circulação de hemoglobina livre de célula, como medido por níveis de hemoglobina livre médios, de 36,7 mg/dL de pré-tratamento a 5,6 mg/dL em 26 semanas com tratamento com eculizumab nos estudos C04-001 e C04-002 combinados ( $P < 0,001$ ).

Tratamento com eculizumab efetivamente reduz o consumo de óxido nítrico, como medido pela mudança média em consumo de óxido nítrico, com óxido nítrico de pré-tratamento médio de  $9,3 \mu\text{M}$  diminuindo por 67,1% na semana 26 com tratamento com eculizumab e com óxido nítrico de pré-tratamento de  $9,9 \mu\text{M}$  aumentando por 14,9% na semana 26 com placebo no estudo C04-001 ( $P < 0,001$ ).

*Efeito de Eculizumab sobre a Taxa Trombótica na População do Estudo Total*

Eventos de tratamento com Eculizumab TE foram determinados por todos os pacientes que entraram e receberam eculizumab nos estudos C04-001, C04-002, C02-001, E02-001, X03-001 e E05-001 PNH com base em intenção para tratar. Eventos TE foram definidos pelo critério MAVE (ver tabela 2 acima) nos estudos C04-001, C04-002, e E05-001 (e

vento adverso primário e listagem histórica médica foram usados para os estudos C02-001, E02-001 e X03-001). Anos de paciente de exposição de eculizumab foram calculados para os estudos C04-001, C02-001, E02-001 e X03-001 completos. Para o estudo C04-002, anos de paciente de exposição a eculizumab foram determinados para cada paciente após 26 semanas de tratamento (os 6 meses de análise interim). No estudo E05-001, anos de paciente de exposição foram determinados para todos os pacientes até abril 2006.

Os anos de paciente de pré-tratamento foram determinados antes de diagnosticar PNH ou primeiro evento trombótico antes de registrar nos estudos clínicos de PNH de origem (C04-001, C04-002, C02-001) e também incluído anos de pacientes de pacientes tratados com placebo no estudo C04-001. Os eventos de TE de pré-tratamento total com eculizumab incluíram todos os eventos TE em todos os pacientes antes de registrar em C04-001, C04-002, e C02-001 mais os eventos TE durante tratamento com placebo no estudo C04-001 (isto é, eventos TE em períodos de pré-tratamento total com eculizumab igual a soma de eventos TE de pré-tratamento com eculizumab em C04-001, C04-002, e C02-001 na tabela 3 mais o pré-C04-001 eventos TE na tabela 4 mais eventos TE de tratamento com placebo na tabela 4). Os eventos TE em período de eculizumab total incluíram todos os eventos TE durante o período que começa da primeira dose de eculizumab. A análise TE primária (isto é, ponto final secundário E05-001) foi realizada com um teste de classificação sinalizado.

Comparado a taxa de eventos tromboembólicos antes de tratamento, tratamento com eculizumab resultou em uma redução na taxa de evento TE nos mesmos pacientes em cada um dos estudos clínicos individuais e uma redução significativa na taxa de evento TE total. O evento TE total foi reduzido de 7,49 eventos TE por 100 pacientes com anos de tratamento com eculizumab para 1,22 eventos TE por 100 pacientes nos mesmos pacientes com anos com tratamento com eculizumab ( $P < 0,001$ ). Isto representou uma redução relativa de 84% e uma redução absoluta de 6,27 eventos TE por 100 pacientes com anos. Taxas de evento tromboembólico são mostradas na tabela 3.

Tabela 3: Eventos Tromboembólicos Gerais antes de Iniciar o Tratamento com eculizumab e Durante Tratamento com eculizumab em C04-001, C04-002, C02-001/E02-001/X03-001 e E05-001

	C04-001	C04-002	C02-001/ E02-001/ X03-001	E05-001 (Todos os estudos combinados)
Pré-tratamento				
Pacientes (n)	43	97	11	195
Eventos MAVE (n)	16	93	5	126



Anos de Pacientes (n)	309,0	718,3	161,7	1683,4
Taxa de evento MAVE (n por 100 pacientes com anos)	5,18	12,95	3,09	7,49
Tratamento com eculizumab				
Pacientes (n)	43	97	11	195
Eventos MAVE (n)	0	2	0	2
Anos de paciente (n)	21,8	48,2	35,8	164,1
Taxa de evento MAVE (n por 100 pacientes com anos)	0,00	4,15	0,00	1,22 <sup>1</sup>

<sup>1</sup> P<0,001 Tratamento com eculizumab vs. Pré-tratamento

A heterogeneidade aparente nas diferentes taxas de eventos de TE em pré-estudo tem sido relacionada em parte para critérios de inclusão diferentes dos três estudos individuais e/ou diferentes locais envolvidos nos estudos individuais. Entretanto, como oposto a relatos anteriores, determinação de evento TE atual foi sistemática, prospectiva e realizada em uma base multicentral, internacional, e controlada nos estudos C04-001, C04-002, e E05-001. Por essas razões, é provável que as taxas de evento TE de pré-estudo mais provavelmente representem a taxa de evento TE nesta população de paciente PNH antes da determinação de estudos PNH com eculizumab, embora mesmo essas estimativas possam subestimar a verdadeira taxa de evento TE como discutido abaixo. Adicionalmente, apesar da heterogeneidade nas taxas de evento TE de pré-estudo individual, o tratamento com eculizumab consistentemente resultou em uma redução marcada em Taxa de evento TE em cada estudo individual.

#### *Testes para Robustez de Efeito de Eculizumab em Trombose*

Devido a redução impressionante na taxa de evento TE observada acima, cinco análises post-hoc foram realizados para testar a robustez do efeito observado. Os maiores assuntos confusos que foram identificados foram possíveis de redução na taxa de evento TE relatando na triagem clínica aleatória quando comparado com histórico médico, redução nas taxas de evento TE sobre o tempo durante o período de pré-tratamento com eculizumab, desequilíbrio quantitativo entre o pré-tratamento com eculizumab e a quantidade de período de tratamento de anos de pacientes, impacto de tratamento com eculizumab em paciente com TE anterior, redução nas taxas de evento TE durante o período de pré-tratamento com eculizumab devido a terapia anticoagulante simultânea.

#### *Avaliação de Potencial para Redução na Taxa de evento TE Relatando na Triagem Clínica Aleatória quando Comparada com Histórico Médico*

A fim de controlar o impacto de confusão potencial de uma redução inesperada em TE reportando durante a triagem clínica aleatória quando comparada a histórico médico de pré-registro, eventos TE foram comparados a pré-registro e em pacientes tratados com pla-

cebo C04-001.

A Taxa de evento TE em pacientes tratados com placebo não foi reduzida quando comparada a taxa nos mesmos pacientes antes de tratamento com placebo. A taxa de evento TE foi 2,34 eventos por 100 pacientes com anos de pré-tratamento com placebo e 4,38 eventos por 100 anos de paciente nos mesmos pacientes com tratamento com placebo. Taxas de evento tromboembólico são mostradas na tabela 4.

Esta análise não suporta a vista que existiu qualquer redução intrínseca na taxa de evento TE relatando durante os estudos clínicos de eculizumab.

Table 4: Eventos tromboembólico nos mesmos pacientes antes de Tratamento com placebo e com tratamento com placebo em C04-001

	C04-001
Pré-tratamento	
Pacientes (n)	44
Eventos MAVE (n)	11
Anos de Pacientes (n)	470,4
Taxa de evento MAVE (n por 100 pacientes com anos)	2,34
Tratamento com placebo	
Pacientes (n)	44
Eventos MAVE (n)	1
Anos de paciente (n)	22,9
Taxa de evento MAVE (n por 100 pacientes com anos)	4,38

*Doze Meses antes de Tratamento vs. Tratamento com Eculizumab*

A fim de avaliar o potencial de ambos (i) uma redução inesperada na taxa de evento TE imediatamente precedente a entrada na triagem, e também (ii) um desequilíbrio quantitativo entre a quantidade de anos de pacientes com o pré-tratamento com eculizumab e períodos de tratamento com eculizumab, uma única análise foi realizada; Taxas de evento TE de pré-tratamento com eculizumab foram truncadas e apenas examinadas antes dos 12 meses imediatamente precedente ao tratamento com eculizumab e comparadas ao período de tratamento disponível com eculizumab. Esta análise serviu para remover mais anos distantes da análise e portanto foco mais na condição médica mais recente do paciente e também para equalizar a quantidade de anos de paciente considerada na análise antes do tratamento com a quantidade de anos de paciente atualmente disponível com tratamento com eculizumab.

Comparado a taxa de evento TE durante apenas o período de 12 meses imediatamente precedente ao início do tratamento com eculizumab, o tratamento com eculizumab resultou em uma redução na taxa de evento TE nos mesmos pacientes em cada um dos

estudos clínicos e uma redução significativa na taxa de evento TE total. A Taxa de evento TE foi reduzida de 17,21 eventos por anos de pré-tratamento com eculizumab de 100 pacientes para 1,22 evento por 100 anos de pacientes nos mesmos pacientes com tratamento com eculizumab ( $P=0,013$ ). Isto representa uma redução relativa de 93%, e uma redução absoluta de 15.99 eventos TE por 100 anos de pacientes. Taxas de evento tromboembólico são mostradas na tabela 5.

É notável que a taxa de evento TE no período de 12 meses imediatamente precedente ao tratamento com eculizumab é marcadamente aumentada em 17,21 eventos TE por 100 anos de paciente, quando comparada a taxa agregada de evento TE de 7,49 Eventos TE por 100 anos de paciente para o período de tempo inteiro que se estende de antes do primeiro diagnóstico TE/PNH para se registrar em uma das triagens de eculizumab PNH. Assim, os dados demonstram que as taxas de evento TE durante o período de 12 meses imediatamente precedente ao tratamento com eculizumab não foram reduzidas quando comparadas a taxa de evento de tratamento com pré-eculizumab total. Esta crescente taxa de evento TE imediatamente precedente ao registro de triagem pode ser indicativa de uma inclinação de sobrevivência substancial no conjunto de dados tratamento com pré-eculizumab. Adicionalmente, este crescente padrão da taxa de evento TE no período imediatamente precedente ao início do tratamento com eculizumab foi seguido por uma interrupção comparativa da taxa de evento TE com tratamento com eculizumab.

Truncar a análise para equalizar a quantidade de anos de pacientes nos dois grupos de comparação, como mostrado na tabela 5 abaixo, não mitiga o impacto benéfico observado de eculizumab sobre a taxa de evento TE. Com uma quantidade aproximadamente igual de anos de pacientes distribuída antes e durante o tratamento com eculizumab, as reduções absoluta e relativa observadas nas taxas de evento, TE com tratamento com eculizumab foram, se existiu, maiores do que aquelas observadas durante a análise primária.

Tabela 5: Eventos Tromboembólicos em Pacientes durante os 12 Meses antes do Início do Tratamento com Eculizumab e Durante o Tratamento com Eculizumab em C04-001, C04-002, C02- 001/E02-001/X03-001 e E05-001

	C04-001	C04-002	C02-001/ E02-001/ X03-001	E05-001 (Todos os estudos combinados)
Pré-tratamento				
Pacientes (n)	43	97	11	195
Eventos MAVE (n)	6	23	3	33
Anos de Pacientes (n)	42,9	93,8	11,0	191,8
Taxa de evento MAVE (n por 100 pa-	13,98	24,51	27,27	17,21

cientes com anos)				
Tratamento com SOLIRIS™				
Pacientes (n)	43	97	11	195
Eventos MAVE (n)	0	2	0	2
Anos de paciente (n)	21,8	48,2	35,8	164,1
Taxa de evento MAVE (n por 100 pacientes com anos)	0,00	4,15	0,00	1,22 <sup>1</sup>

<sup>1</sup>P=0013 Eculizumab vs. Pré-tratamento

*Avaliação de Impacto de Tratamento com Eculizumab em Paciente com TE Anterior*

A fim de controle para e identificar o impacto de trombose anterior na análise, to e-  
feito de eculizumab na taxa de evento TE em pacientes com TE anterior foi examinado. Pa-  
5 cientes que não tiveram um tratamento com pré-eculizumab de evento TE foram excluídos  
da análise. Comparado a taxa de eventos tromboembólicos em pacientes com TE anterior  
antes de tratamento com eculizumab, tratamento com eculizumab resultou em uma redução  
na taxa de evento TE nos mesmos pacientes em cada um dos estudos clínicos e uma redu-  
ção significativa na Taxa de evento TE total. A Taxa de evento TE foi reduzida de 21,95 E-  
10 ventos TE por 100 anos de paciente de pré-tratamento com eculizumab para 3,42 Eventos  
TE por 100 anos de paciente nos mesmos pacientes com tratamento com eculizumab  
(P<0,001). Isto representou uma redução de 84%, e uma redução absoluta de 18.53 Even-  
tos TE por 100 anos de paciente. Taxas de evento tromboembólico são mostradas na tabela  
6.

15 Assim, em pacientes com a maior taxa de tratamento de pré-eculizumab, o tratamen-  
to com eculizumab causou uma redução altamente significativa e proporcionada nas taxas  
de evento TE.

20 Tabela 6: Eventos Tromboembólicos em Paciente com Eventos Trombóticos Antes  
do Início do Tratamento com Eculizumab e Durante o Tratamento com Eculizumab em C04-  
001, C04-002, C02-001/E02-001/X03-001 e E05-001

	C04-001	C04-002	C02-001/ E02-001/ X03-001	E05-001 (Todos os es- tudos combina- dos)
Pré-tratamento				
Pacientes (n)	9	42	3	63
Eventos MAVE (n)	16	93	5	126
Anos de Pacientes (n)	78,7	329,2	17,6	574,2
Taxa de evento MAVE (n por 100 pacientes com anos)	20,34	28,25	28,43	21,95

Tratamento com Eculizumab				
Pacientes (n)	9	42	3	63
Eventos MAVE (n)	0	2	0	2
Anos de paciente (n)	4,6	20,7	9,1	58,5
Taxa de evento MAVE (n por 100 pacientes com anos)	0,00	9,68	0,00	3,42 <sup>1</sup>

<sup>1</sup>P<0,001 Eculizumab vs Pré-tratamento

*Avaliação de Impacto de Tratamento com Eculizumab em Pacientes Tratados Simultaneamente com Terapia Anticoagulante*

A fim de avaliar o impacto potencial de outras terapias anti-trombóticas (que podem compreender ambas as terapias anticoagulante e antiplaqueta) para reduzir as taxas de evento TE sobre o tempo antes de tratamento com eculizumab, o efeito potencialmente confundido de terapia anticoagulante foi controlado especificamente examinando o efeito do tratamento com eculizumab sobre a taxa de evento TE em pacientes com terapia de anticoagulação anterior. Taxas de evento TE em pacientes que nunca anticoagularam foram também examinadas, nesta análise, Eventos TE antes do início de terapia anticoagulante foram excluídos.

Comparados a taxa de evento TE em pacientes tratados com terapia anticoagulante antes do início do tratamento de tratamento com eculizumab, tratamento com eculizumab resultou em uma redução na Taxa de evento TE nos mesmos pacientes em cada um dos estudos clínicos e uma redução significativa na the Taxa de evento TE total. A Taxa de evento TE foi reduzida de 14,00 Eventos TE por 100 anos de paciente com terapia anticoagulante, mas antes de iniciar o tratamento com eculizumab para 0,00 Evento TE por 100 anos de paciente com tratamento com eculizumab nos mesmos pacientes (P<0,001). Isto representou uma redução relativa de 100%, e uma redução absoluta de 14,00 Eventos TE por 100 anos de paciente. Taxas de evento tromboembólico são mostradas na tabela 7.

Comparado a taxa insignificante de eventos tromboembólico em pacientes sem terapia anticoagulante antes do tratamento com eculizumab, tratamento com eculizumab resultou em mudana insignificante na taxa de evento tromboembólico. A Taxa de evento TE foi 1,31 Evento TE por 100 anos de paciente pré-tratamento com eculizumab e 2,90 Eventos TE por 100 anos de paciente nos mesmos pacientes com tratamento com eculizumab (P=LOOO). Taxas de evento tromboembólico são mostradas na tabela 8.

Tabela 7: Eventos Tromboembólico em Pacientes com Tratamento Anticoagulante Anterior ao Início do Tratamento com Eculizumab e Durante o Tratamento com Eculizumab em C04- 001, C04-002, C02-001/E02-001/X03-001 e E05-001

	C04-001	C04-002	C02-001/ E02-001/	E05-001 (Todos os es-
--	---------	---------	----------------------	--------------------------

			X03-001	todos combina- dos)
Pré-tratamento				
Pacientes (n)	23	51	9	103
Eventos MAVE (n)	11	35	4	54
Anos de Pacientes (n)	72,7	168,6	45,9	385,7
Taxa de evento MAVE (n por 100 pa- cientes com anos)	15,13	20,76	8,71	14,00
Tratamento com Eculizumab				
Pacientes (n)	23	51	9	103
Eventos MAVE (n)	0	0	0	0
Anos de paciente (n)	11,9	24,8	28,8	100,1
Taxa de evento MAVE (n por 100 pa- cientes com anos)	0,00	0,00	0,00	0,00 <sup>1</sup>

<sup>1</sup> P<0,001 Eculizumab vs. Pré-tratamento

Table 8: Eventos Tromboembólicos em Pacientes sem Tratamento Anticoagulante Anterior antes do Início do Tratamento com Eculizumab e Durante o Tratamento com Eculizumab em C04-001, C04-002, C02-001/E02-001/X03-001 e E05-001

	C04-001	C04-002	C02-001/ E02-001/ X03-001	E05-001 (Todos os es- tudos combina- dos)
Pré-tratamento				
Pacientes (n)	20	46	2	92
Eventos MAVE (n)	0	7	0	10
Anos de Pacientes (n)	122,4	319,4	69,4	764,3
Taxa de evento MAVE (n por 100 pa- cientes com anos)	0,00	2,19	0,00	1,31
Tratamento com Eculizumab				
Pacientes (n)	20	46	2	92
Eventos MAVE (n)	0	0	0	0
Anos de paciente (n)	9,9	22,2	7,0	69,0
Taxa de evento MAVE (n por 100 pa- cientes com anos)	0,00	8,99	0,00	2,90 <sup>1</sup>

<sup>1</sup> P = 1,000 Eculizumab vs. Pré-tratamento

Eculizumab demonstrou ser seguro e bem tolerado para o tratamento de PNH. Em estudos de pacientes diagnosticado com PNH, não existiram considerações seguras signifi-

cantes aparentes associadas com terapia com eculizumab. Frequência de evento adverso foi similar em pacientes tratados com eculizumab e placebo e a frequência total de eventos adversos sérios foi menor com eculizumab do que com placebo. Existiu uma infecção relacionada com espécies *Neisseria species* em um paciente PNH vacinado que foi tratado efetivamente e foi resolvido sem seqüelas clínicas. A frequência total de infecções foi similar com eculizumab e placebo. Hemólise séria seguindo descontinuação de eculizumab em paciente de PNH não foi observada e pacientes que descontinuaram eculizumab foram efetivamente tratados com padrão de cuidado. A incidência de distúrbios de falha de medula óssea não foi alterada com o tratamento com eculizumab. Em adição, nenhuma toxicidade relacionada a dose foi observada nestes estudos.

### EXEMPLO 3

Eculizumab, um inibidor complementar, mostrou reduzir hemólise intravascular e exigências de transfusão em pacientes com PNH. Pacientes tratados com eculizumab, quando comparados a placebo, mostraram uma diminuição de 85,8% na hemólise intravascular (como medido pela área LDH sob uma curva,  $p < 0,001$ ). Esta redução na hemólise com eculizumab resultou em um aumento de 2,5 vezes na massa RBC PNH de uma média de  $0,81 \times 10^{12}$  células/L na baselina para  $2,05 \times 10^{12}$  células/L em 26 semanas ( $p < 0,001$ ), enquanto a massa RBC PNH em pacientes tratados com placebo permaneceu relativamente não alterada (a partir de uma média de  $1,09 \times 10^{12}$  células/L a  $1,16 \times 10^{12}$  células/L) (FIGURA 11). O aumento na massa de RBC PNH foi associado com um aumento total nos níveis de hemoglobina em pacientes tratados com eculizumab relativos a placebo ( $p < 0,001$ , análise de modelo misturado). O número de unidades PRBC transfundidas diminuiu de uma média de 10,0/paciente com placebo para 0,0/paciente com eculizumab ( $p < 0,001$ ), e 51,2% de pacientes tratados com eculizumab se tornaram independentes de transfusão (versus 0,0% de pacientes com placebo,  $p < 0,001$ ). Mesmo em pacientes que precisaram de algumas transfusões enquanto em eculizumab mostraram uma redução marcada em exigências de transfusão a partir de uma média de 10,0 unidades por paciente com placebo para 6,0 unidades/paciente com eculizumab ( $p < 0,001$ ). A redução em unidades PRBC transfundidas com eculizumab foi observada independente de exigências de transfusão antes do tratamento, com significância estatística alcançada em 3 de 3 strata de transfusão de pré-tratamento (4 para 14 unidades/ano; 15-25 unidades/ano; e  $> 25$  unidades/ano,  $p < 0,001$  para cada stratum) (ver tabela 9). Reduções significantes foram observadas em hemólise intravascular (LDH) em pacientes tratados com eculizumab que alcançaram independência de transfusão ( $p < 0,001$ ) assim como aqueles que não alcançaram ( $p < 0,001$ ) (ver tabela 10). Tomados juntos, esses dados demonstraram que controle eficaz de hemólise intravascular PNH com eculizumab resulta em uma melhora substancial em anemia, como evidenciado por um aumento na massa de RBC endógena, uma melhora nos níveis de hemoglobina, e uma redu-

ção em exigências de transfusão. Reduções substanciais e significantes em hemólise intravascular e melhoraem anemia com eculizumab são demonstradas independente de exigências de transfusão em histórico ou se pacientes alcançaram independência de transfusão drante o tratamento. Ver Hillmen et al., N. Engl. J. Med. 355:1233-1243 (2006).

5 Table 9 - Exigência de Transfusão durante Tratamento por Strata de Transfusão de Pré-tratamento

		Células Vermelhas Empacotadas Médias (unidades/paciente)			
Stratum de Transfusão (Unidades)	Nº de Pacien- tes	Placebo	Eculizumab	Valor P*	
Total	87	10,0	0,0	<0,001	
4-14	30	6,0	0,0	<0,001	
15-25	35	10,0	2,0	<0,001	
>25	22	18,0	3,0	<0,001	

Tabela 10 – Hemólise (LDH AUC) durante Tratamento por Strata de Transfusão de Pré-tratamento

		Área de Dehidrogenase de Lactato Média sob a Curva (unidades/L x Dia)			
Stratum de Transfusão (Unidades)	Nº de Pacientes	Placebo	Eculizumab	Valor P*	
Total	87	411,822	58,587	<0,001	
4-14	30	398,573	53,610	<0,001	
15-25	35	420,338	56,127	<0,001	
>25	22	441,880	67,181	<0,001	

10 Strata de Aleatorização foram baseadas em dados de transfusão durante um período de 12 meses antes de seleção.

\*Valor P foi calculado usando teste de soma de classificação Wilcoxon.

#### EXEMPLO 4

Um homem de 48 anos dependente de transfusão foi diagnosticado com anemia aplástica em maio de 1988 com PNH em setembro de 1993. Ele se tornou dependente de



transusão devido ao PNH que se iniciou em setembro de 1993, necessitando de transfusões de células sanguíneas vermelhas empacotadas (PRBCs) a cada 4 a 6 semanas. Ele recebeu infusões de eculizumab iniciando em 22 de maio de 2002 e é atualmente dosado em 900 mg uma semana sim e outra não. Em 6 de novembro de 2002, após 6 meses recebendo eculizumab, rHuEpo (NeoRecormon®) terapia foi iniciada nas seguintes doses: 450 IU/kg/semana em 3 doses divididas durante os primeiros 2 meses; 900 IU/kg/semana em 3 doses divididas durante os próximos 15 meses, e 750 IU/kg/semana em 3 doses divididas até 3 de maio de 2006. ao mesmo tempo ele foi intercalado com Aranesp® em uma dose de 300 meg a cada 2 semanas. A dose foi aumentada para 500 meg a cada duas semanas em 28 de junho de 2006.

Hemólise intravascular foi avaliada medindo níveis de desidrogenase de lactato de enzima (LDH). Níveis de eritropoiese foram determinados medindo contagens de reticulócitos. Massa de RBC PNH foi calculada multiplicando o número absoluto de RBCs pela proporção de RBCs tipo III PNH como avaliado pela citometria de fluxo. Níveis de hemoglobina e exigências de transfusão de PRBC foram também monitorados. Todas as avaliações foram coletadas até a presente data e resultados são reportados até agosto de 2006.

Durante o ano anterior a terapia com eculizumab, o nível de LDH médio foi 2,075 IU/L (mais do que 4 vezes aquele do limite superior da faixa normal), o nível de hemoglobina médio hemoglobina foi 10.5 g/dL, e a contagem de reticulócito média foi  $77,5 \times 10^9/L$  (Tabela 11). O número absoluto de PNH tipo III RBCs foi  $1,1 \times 10^{12}/L$ , e a proporção dessas células constituiu menos do que 50% do total da massa de RBC. O paciente necessitou de 1,8 unidades de PRBCs por mês durante o período de pré-tratamento (Tabela 11), recebendo um total de 9 transfusões e 22 unidades (Figura 12).

Tabela 11 : Parâmetros Hematológicos Antes e Após Terapias com Eculizumab e rHuEpo.

		Média $\pm$ SD	
Parâmetro	Pré-tratamento (1 ano)	Eculizumab sozinho (0,5 ano)	Eculizumab rHuEpo (3,7 anos)
LDH, IU/L (faixa normal 150-480)	2075 $\pm$ 1590	456 $\pm$ 76	679 $\pm$ 146
Hemoglobina, g/dL (faixa normal 13,5-18,0)	10,5 $\pm$ 1,5	10,2 $\pm$ 0,9	11,4 $\pm$ 1,1

Reticulócitos, $\times 10^9/L$	77,5 $\pm$ 10,6	96,4 $\pm$ 29,5	205,3 $\pm$ 43,6
(faixa normal 20-80)			
PNH tipo III RBCs, $\times 10^{12}/L^*$	1,1 $\pm$ 0,3	1,9 $\pm$ 0,1	2,5 $\pm$ 0,3
Unidades transfundidas por mês	1,8	1,0	0,1

\*Calculado como (proporção de PNH tipo III RBCs) x (número total de RBCs) /100

Após iniciar tratamento com eculizumab, hemólise foi rapidamente e consistentemente reduzida como indicado por uma diminuição de 78% no nível de LDH médio (Tabela 11). Um aumento simultâneo (73%) na massa de PNH tipo III RBC foi também demonstrado, suportando sobrevivência melhorada dessa célula. Adicionalmente, o número médio de transfusões exigidas a cada mês foi reduzido em 44%. Hemoglobina de RBC foi estável mesmo que a exigência de transfusão diminuiu, indicando um aumento na rede de níveis de hemoglobina endógena (Tabela 11 ).

Após 6 meses de tratamento com eculizumab, o paciente recebeu terapia simultânea de rHuEpo resultando em um aumento na contagem de reticulócitos médio de 113% (Tabela 11). Este aumento em eritropoiese foi associado com um aumento adicional de 32% na massa de PNH tipo III RBC durante aquela alcançada com tratamento com eculizumab sozinho. Em adição, níveis de hemoglobina de RBC mostraram um aumento de 10,2 g/dL a 11,4 g/dL durante o mesmo período. Esta melhora na anemia resultou em uma diminuição adicional em exigências de transfusão, eventualmente levando a independência de transfusão para mais do que dois anos (Figura 12). Uma transfusão foi dada após os dois anos de independência de transfusão e isto coincidiu com uma diminuição transiente em eritropoiese, como evidenciado por uma gota na contagem de reticulócitos (dados não mostrados). Não existiu nenhuma evidência de um aumento na hemólise intravascular e níveis de LDH permaneceram dentro da faixa normal ou imediatamente acima do limite superior da faixa normal durante o período de tratamento inteiro. Este paciente continua a receber eculizumab e rHuEpo e recebeu apenas 1 transfusão em mais de 3 anos.

#### EXEMPLO 5

Hipertensão pulmonar (PHT) é uma complicação emergente comum de anemias hemolíticas hereditárias. Ela foi mecanística e epidemiologicamente ligada a hemólise intravascular e biodisponibilidade de óxido nítrico (NO). Enquanto esta complicação foi descrita em aproximadamente 30% de pacientes adultos com doença celular falciforme e talassemia, a prevalência de PHT em pacientes com hemoglobinúria noturna paroxismal (PNH), uma doença adquirida com os mais altos níveis de hemólise intravascular observados, foi determinado. Pacientes com PNH frequentemente têm sintomas consistentes com hemólise e

PHT incluindo fadiga severa e dispnéia sobre esforço. Portanto, foram examinados a presença de PHT em PNH e mecanismos potenciais explorados associados com seu desenvolvimento medindo a capacidade de plasma para instantaneamente consumir NO usando quimioluminescência baseada em ozônio.

5 Ecocardiografia doppler foi realizada em 28 pacientes com hemolítico para estimular pressões sistólicas da artéria pulmonar. PHT sistólica foi definida por uma velocidade a jato regurgitante tricúspica (TRV)  $>2,5\text{m/s}$  ao resto. Quatorze pacientes (50%) tiveram pressões sistólicas da artéria pulmonar elevadas. Doze (43%) tiveram PHT de suave a moderado (TRV médio  $2.6\text{m/s} \pm 0,01$ ) enquanto dois (7%) tiveram pressões de moderado a severo  
10 (TRV médio  $3.7\text{m/s} \pm 0,02$ ). Plasma de pacientes com PNH ( $n=32$ ) consumiu  $34.6 \pm 8.3 \mu\text{M}$  de NO enquanto indivíduos normais ( $n=9$ ) consumiram  $2.2 \pm 0,6\mu\text{M}$  de NO ( $p=0,0001$ ). Níveis de LDH correlacionados com consumo de NO ( $r=0.6342$ ,  $p<0,0002$ ). Em um grupo separado de 7 pacientes tratados com eculizumab por uma média de 3 anos para reduzir hemólise, a capacidade de consumo de NO pareceu menor ( $13.2 \pm 4.8\mu\text{M NO}$ ).

#### 15 EXEMPLO 6

Pacientes com PNH sofrem de morbidades induzidas por hemólise séria e diversa levando a uma qualidade de vida (QoL) inferior. fadiga em pacientes com PNH pode ser desabilitada e níveis são similares a pacientes com câncer anêmico. A fadiga é multifatorial relacionada a anemia e hemólise. Pacientes sofrem de status de saúde global reduzido, funcionalidade de paciente, dor e dispnéia. O tratamento com o inibidor complementar eculizumab reduz hemólise intravascular e melhora a anemia. O impacto de tratamento com eculizumab em níveis de fadiga e outros resultados relatados a pacientes foram prospectivamente em um estudo controlado por placebo duplamente cego (TRIUMPH) usando instrumentos distintos, a fadiga FACIT e o EORTC QLQ-C30. Melhorias em QoL foram quantificadas usando tamanhos de efeito padronizados (SES), uma medida da magnitude do benefício clínico em vários instrumentos. O tratamento com eculizumab, quando comparado a placebo, foi associado com melhorias muito grandes e significantes na fadiga medida pela escala de fadiga FACIT (SES=1.13,  $P<0,001$ ) bem como a subescala de fadiga EORTC-QLQ-C30 ((SES=1.12,  $P<0,001$ ). Similarmente, a porcentagem de pacientes que alcançam uma diferença minimamente importante pré-especificada (MID) foi 53.7% versus 20.5% de pacientes  
25 tratados com eculizumab e placebo, respectivamente ( $P=0.003$ ) usando a fadiga FACIT; 67.6% versus 24.4%, respectivamente ( $P<0,001$ ) com o EORTC QLQ-C30. Análise de uma variável independente de tratamento mostrou que redução em hemólise intravascular (níveis de LDH diminuídos) e melhora na anemia (níveis de hemoglobina aumentados) foram significativamente associados com uma melhora na fadiga. Análises de multivariáveis adicionais indicaram que redução na hemólise foi mais preditiva do que melhora na fadiga. O tratamento com eculizumab foi também associado com melhoras significantes com SES moderado a  
35

grande nas seguintes subescalas EORTC- QLQ-C30 subscales: status de saúde global (0.87,  $P<0,001$ ); funcionalidade de execução (0.93,  $P<0,001$ ); funcionalidade social (0.57,  $P=0,003$ ); funcionalidade cognitiva (0,78,  $P=0,002$ ); funcionalidade física (1.01,  $P<0,001$ ); funcionalidade emocional (0.51,  $P=0,008$ ); dor (0.65,  $P=0,002$ ); dispnéia (0.69,  $P<0,001$ ); e perda de apetite (0.50,  $P<0,001$ ). esses dados demonstraram que resolução de hemólise intravascular com tratamento com eculizumab resulta em melhoras grandes e clinicamente importantes em pacientes que relataram resultados incluindo fadiga, status de saúde global, funcionalidade de paciente, e sintomas relacionados a doença em PNH.

#### EXEMPLO 7

Em hemoglobinúria noturna paroxismal (PNH), a falta de inibidor complementar de terminal ancorado por GPI CD59 proveniente das células sanguíneas renderiza eritrócitos suscetíveis a hemólise crônica resultando em anemia, fadiga, trombose, qualidade de vida inferior (QoL), e uma dependência em transfusões. Eculizumab, um inibidor complementar, reduziu hemólise intravascular e exigências de transfusão em pacientes dependentes de transfusão com contagens de plaquetas normais ou próximas a normal em uma triagem controlada por placebo aleatorizada (TRIUMPH). SHEPHERD, um estudo clínico de fase III de 52 semanas controlado por não placebo, e de rótulo aberto, é encaminhado para avaliar a segurança e eficácia de eculizumab em uma população com PNH ampla incluindo pacientes com trombocitopenia significativa e/ou exigências de transfusão inferiores. Eculizumab foi dosado como segue: 600 mg IV a cada 7 dias x 4; 900 mg 7 dias após; e em seguida 900 mg a cada 14+2 dias. Eculizumab foi administrado a 97 pacientes em 33 locais internacionais. Em uma análise interim de 6 meses pré-especificada, os eventos adversos mais frequentes foram dor de cabeça (50%), nasofaringite (23%), e náusea (16%); a maioria foram de leves a moderados em severidade. Nenhuma infecção ou evento adverso sério foram relatados como "provavelmente" ou "definitivamente" relacionada ao fármaco. Hemólise intravascular, a manifestação clínica central em PNH e o ponto final de eficácia de surrogate primário da triagem, foi significativamente reduzida em pacientes com eculizumab como avaliado pela mudança na área de dehidrogenase de lactato (LDH) sob a curva ( $p<0,001$ ). Níveis de LDH diminuíram de uma média de 2,051 U/L em baselina para 270 U/L em 26 semanas ( $p<0,001$ ; faixa normal 103- 223 U/L). O controle de hemólise intravascular resultou em uma melhora na anemia assim como exigências de transfusão diminuíram de uma média de 4.0 PRBC unidades/pacientes de pré-tratamento para 0,0 durante tratamento ( $p<0,001$ ), aproximadamente 50% dos pacientes foram renderizados independentes de transfusão ( $P<0,001$ ), e níveis de hemoglobina aumentaram ( $p<0,001$ ). Fadiga, como medida por fadiga FACIT e instrumentos EORTC QLQ-C30 foi significativamente melhorada com tratamento com eculizumab quando comparada à baselina ( $p<0,001$  para cada) (FIGURA 13 e tabela 12). Outros pacientes de EORTC-QLQ-C30 relataram resultados demonstrando me-

lhoras que incluíram status de saúde global ( $p < 0,001$ ), todos os 5 pacientes funcionando em subescalas ( $p < 0,001$ ) e 7 dos 9 sintomas/subescalas de item único ( $p \leq 0,03$ ). Esses resultados demonstraram que os efeitos benéficos de eculizumab em PNH são aplicáveis a muitos pacientes do que em estudos anteriores e resultados adicionais que tratamento com eculizumab

5 marcadamente reduziram hemólise intravascular, desse modo provendo benefício clínico para tratar pacientes.

Tabela 12: Fadiga e outros resultados, como medidos por Fadiga FACIT e instrumentos EORTC QLQ-C30.

	MID (%)*	SES†	Mudança de base- na P-valor ‡
Fadiga FACIT	74,5	1,01	<0,001
EORTC QLQ-C30			
Fadiga	80,9	1,08	<0,001
Status de saúde global	59,6	0,73	<0,001
Escalas de funcionalidade			
Física	50,0	0,86	<0,001
Execução	55,3	0,70	<0,001
Cognitiva	39,4	0,40	<0,001
Social	54,3	0,61	<0,001
Emocional	44,7	0,58	<0,001
Dispneia	55,3	0,75	<0,001
Dor	30,9	0,30	0,004
Perda de apetite	20,2	0,31	<0,001
Insônia	35,1	0,48	<0,001
Dificuldades financeiras	15,1	0,08	0,804
Constipação	10,8	0,08	0,758
Náusea / vômito	18,1	0,05	0,034
Diarréia	17,0	0,27	<0,001

#### EXEMPLO 8

10 Hemoglobinúria noturna paroxismal (PNH) é caracterizada por expansão clonal de células vermelhas de PNH que são altamente sensíveis para lizar pelo complemento terminal. A lesão primária em PNH é falha de medula óssea na forma de anemia aplástica mediada imune e citopenias de sangue periféricas de várias severidades. No exemplo 1, o controle bem sucedido de hemólise e transfusão em 11 pacientes com o inibidor complementar

15 eculizumab é descrito. Dez desses 11 pacientes permaneceram em terapia com eculizumab

após aproximadamente 3 anos com reduções mantidas em hemólise intravascular e transfusão. A eficácia de terapia com eculizumab nesses pacientes se dá através da proteção da célula vermelha com PNH a partir de lise mediada por complemento e a expansão desta população celular. Estudos de citometria de fluxo têm mostrado que a porcentagem de células vermelhas com PNH aumentou significativamente de uma média de 36,7% antes do tratamento para 58,4% em 64 semanas de terapia. De forma importante, granulócito monócito e tamanhos de clone de plaqueta foram >90% antes do tratamento e permaneceram estáveis para todos os pacientes por toda a triagem sugerindo que a maioria da hematopoiese é derivada de células tronco com PNH. É hipotetizado que o clone de célula vermelha com PNH deve abordar o tamanho do clone de outras células hematopoiéticas mielóides em um dado paciente quando a hemólise é evitada com terapia com eculizumab assim como isto mostra mais precisamente a atividade celular estaminal de PNH.

Em todos os pacientes a hemólise foi substancialmente reduzida para 21 dias. Em 9 de 11 pacientes, existiu um rápido aumento na contagem de células vermelhas com PNH com o número absoluto médio de células vermelhas com PNH aumentando de  $1.37 \times 10^{12}/L$  antes do tratamento para  $1,50 \times 10^{12}/L$  em 2 semanas ( $P=0,21$ ),  $1,74 \times 10^{12}/L$  em 4 semanas ( $P=0,002$ ), e  $2.11 \times 10^{12}/L$  em 12 semanas ( $P=0,001$ ) do tratamento com eculizumab. A resposta de célula vermelha teórica máxima foi alcançada em uma média de 178 dias (faixa de 49 - 419 dias). O número absoluto médio de células vermelhas com PNH aumentou para  $2.37 \times 10^{12}/L$  em uma resposta máxima ( $P=0,001$ ), um aumento de 73% (faixa de 36% - 207%). Todos os pacientes alcançaram uma resposta máxima antes de 18 meses de tratamento e tamanho de clone foi subsequentemente estável. Em 2 pacientes, apesar da eficácia de eculizumab em resolver hemólise não houve nenhuma mudança nos números absolutos de pré- e pós-tratamento com células vermelhas com PNH. Isto se dá provavelmente devido a uma combinação de um grau inferior de hemólise e insuficiência de medula óssea mais profunda nesses pacientes. A determinação de contagens de célula vermelha com PNH absolutas durante os primeiros 12 meses de terapia com eculizumab pode identificar quais pacientes irão se tornar independentes de transfusão e quais pacientes podem se beneficiar de um suporte de fator de crescimento adicional para eritropoiese ajudada. Além do mais, terapia com eculizumab de longo prazo pareceu estar associada com um tamanho de clone de célula vermelha com PNH neste estudo clínico inicial.

#### EXEMPLO 9

Surpreendentemente, no estudo C04-002, tratamento com eculizumab, quando comparado a baseлина, foi associado com um aumento aparente em parâmetros de ativação de plaqueta (análise de modelo misturado, total). Aumentos estatisticamente significativos foram observados em agregados de monócitos-plaquetas (aumento médio de 7.9%,  $P=0,002$ ), agregados de neutrófilos-plaquetas (aumento médio de 5.3%,  $P<0,001$ ) e a por-

centagem de plaquetas positivas de P-Selectina (aumento médio de 3.7%,  $P<0,001$ ). Similarmente, pacientes tratados com eculizumab no estudo C04-001 foram observados em agregados de monócito-plaquetas (aumento médio de 15.0%,  $P=0,056$ ), agregados de neutrófilos-plaquetas (aumento médio de 11.2%,  $P=0,077$ ) e porcentagem de plaquetas positivas de P-Selectina (aumento médio de 5.1%,  $P=0,044$ ).

Nos estudos C04-001 e C04-002 combinados, aumentos significativos foram também observados em agregados de monócitos-plaquetas (aumento médio de 10,1%,  $P<0,001$ ), agregados de neutrófilos-plaquetas (aumento médio de 7.0%,  $P<0,001$ ) e a porcentagem de plaquetas positivas de P-Selectina (aumento médio de 4.1%,  $P<0,001$ ). Neste estudo C04-001 controlado por placebo, o grupo com eculizumab bem como o grupo com placebo mostraram aumento similar em parâmetros de ativação de plaqueta a partir de baselina (Tabela 13 A-F). Nestes pacientes tratados com placebo, aumentos a partir da baselina foram observados nos agregados de monócitos-plaquetas (aumento médio de 2.2%,  $P=0,771$ ), agregados de neutrófilos-plaquetas (aumento médio de 6.9%,  $P=0.135$ ) e a porcentagem de plaquetas positivas de P-Selectina (aumento médio de 5.9%,  $P=0,001$ ) (tabela 14A-C).

TABELA 13A: C04-002; C04-001 e C04-002 Comparado e Combinado: Análise de modelo misturado de mudança nos Marcadores de Ativação de Plaqueta; Mudança a partir de Baselina

#### AGREGAÇÃO DE PLAQUETA - MONÓCITO

Estudo	Semana de Estudo	Estatística	DF	Valor P (a)		
C04-001 (N = 43)	Valor de baselina médio	44.282				
	Média dos mínimos quadrados	1	9.294	0.98	34	0.333249423
		2	14.009	1.48	34	0.148210796
		4	27.935	2.95	34	0.005713194
		14	16.012	1.64	34	0.110194214
		26	10.827	1.11	34	0.275177698
	Total (b)	Total	15.005	1.98	34	0.055927296
C-04-002 (N = 97)	Valor de baselina médio	26.310				
	Média dos mínimos quadrados	1	2.967	0.65	95	0.518317428
		2	2.691	0.62	95	0.534704269
		4	9.596	2.22	95	0.028644828
		14	11.193	2.54	95	0.012540534
		26	11.838	2.69	95	0.008417504
	Total (b)	Total	7.940	3.17	95	0.002037650

Nota: (a) valor P foi baseado no teste T

(b) total foi baseado na média da media dos mínimos quadrados da semana 1 a semana 26

5 TABELA 13B: C04-002; C04-001 e C04-002 Comparado e Combinado: Análise de modelo misturado de mudança nos Marcadores de Ativação de Plaqueta; Mudança a partir de Baseline

### AGREGAÇÃO DE PLAQUETA - MONÓCITO

Estudo		Semana de Estudo	Estatística		DF	Valor P (a)
(N = 140) combinado	Valor de baseline médio		31.302			
	Média dos mínimos quadrados	1	4.971	1.15	133	0.250281818
		2	5.794	1.39	133	0.166169537
		4	14.650	3.52	133	0.000591120
		14	12.842	3.02	133	0.003059012
		26	11.824	2.78	133	0.006256488
	Total (b)	Total	10.092	3.47	133	0.000691639
Placebo (N = 44)	Valor de baseline médio		39.444			
	Média dos mínimos quadrados	1	4.768	0.55	44	0.585815062
		2	-3.814	-0.45	44	0.652851604
		4	5.484	0.63	44	0.531000233
		14	-4.964	-0.55	44	0.583493606
		26	13.523	1.61	44	0.115481853
	Total (b)	Total	2.181	0.37	44	0.711338659

Nota: (a) valor P foi baseado no teste T

10 (b) total foi baseado na média da media dos mínimos quadrados da semana 1 a semana 26



TABELA 13C: C04-002; C04-001 e C04-002 Comparado e Combinado: Análise de modelo misturado de mudança nos Marcadores de Ativação de Plaqueta; Mudança a partir de Baseline

AGREGAÇÃO DE PLAQUETA - NEUTRÓFILO

Estudo		Semana de Estudo		Estatística	DF	Valor P (a)
C04-001 (N = 43)	Valor de baselina médio			23.555		
	Média dos mínimos quadrados	1	6.057	0.75	34	0.457636650
		2	6.877	0.85	34	0.399618945
		4	21.467	2.66	34	0.011756090
		14	16.246	1.95	34	0.059947232
		26	6.857	0.82	34	0.417142286
	Total (b)	Total	11.222	1.83	34	0.076671903
C-04-002 (N = 97)	Valor de baselina médio			10.586		
	Média dos mínimos quadrados	1	3.558	1.27	94	0.208460346
		2	0.353	0.13	94	0.894343104
		4	4.011	1.51	94	0.133423112
		14	9.505	3.52	94	0.000663614
		26	8.476	3.14	94	0.002261817
	Total (b)	Total	5.275	3.51	94	0.000679427

5

Nota: (a) valor P foi baseado no teste T

(b) total foi baseado na média da media dos mínimos quadrados da semana 1 a semana 26

TABELA 13D: C04-002; C04-001 e C04-002 Comparado e Combinado: Análise de modelo misturado de mudança nos Marcadores de Ativação de Plaqueta; Mudança a partir de Baseline

AGREGAÇÃO DE PLAQUETA - NEUTRÓFILO

Estudo		Semana de Estudo	Estatística		DF	Valor P (a)
(N = 140) combinado	Valor de baseline médio		14.188			
	Média dos mínimos quadrados	1	4.232	1.38	133	0.170014676
		2	2.156	0.73	133	0.467887940
		4	8.851	2.99	133	0.003344370
		14	11.514	3.80	133	0.000220613
		26	8.246	2.72	133	0.007382065
	Total (b)	Total	6.999	3.44	133	0.000781995
Placebo (N = 44)	Valor de baseline médio		16.172			
	Média dos mínimos quadrados	1	5.275	0.77	44	0.448005308
		2	-0.160	-0.02	44	0.980942735
		4	9.719	1.41	44	0.165084720
		14	4.415	0.62	44	0.539239191
		26	17.220	2.58	44	0.013226012
	Total (b)	Total	6.919	1.52	44	0.135363716

5

Nota: (a) valor P foi baseado no teste T

(b) total foi baseado na média da media dos mínimos quadrados da semana 1 a semana 26

TABELA 13E: C04-002; C04-001 e C04-002 Comparado e Combinado: Análise de modelo misturado de mudança nos Marcadores de Ativação de Plaqueta; Mudança a partir de Baseline

EXPRESSÃO DE P-SELECTINA

Estudo	Semana de Estudo	Estatística	DF	Valor P (a)		
C04-001 (N = 43)	Valor de baseline médio	7.941				
	Média dos mínimos quadrados	1	2.157	0.50	34	0.621911155
		2	5.479	1.26	34	0.214825093
		4	7.478	1.73	34	0.093582884
		14	6.591	1.45	34	0.157269235
		26	6.011	1.32	34	0.195994953
	Total (b)	Total	5.149	2.09	34	0.044482961
C-04-002 (N = 97)	Valor de baseline médio	7.517				
	Média dos mínimos quadrados	1	4.462	2.12	95	0.036933290
		2	4.009	2.02	95	0.046211034
		4	3.817	1.92	95	0.057451135
		14	2.535	1.25	95	0.213238625
		26	3.035	1.50	95	0.137140051
	Total (b)	Total	3.671	3.45	95	0.000837199

5

Nota: (a) valor P foi baseado no teste T

(b) total foi baseado na média da media dos mínimos quadrados da semana 1 a semana 26

TABELA 13F: C04-002; C04-001 e C04-002 Comparado e Combinado: Análise de modelo misturado de mudança nos Marcadores de Ativação de Plaqueta; Mudança a partir de Baseline

EXPRESSÃO DE P-SELECTINA

Estudo		Semana de Estudo	Estatística		DF	Valor P (a)
(N = 140) combinado	Valor de baseline médio		7.635			
	Média dos mínimos quadrados	1	3.763	1.92	133	0.056451906
		2	4.333	2.31	133	0.022390009
		4	4.750	2.53	133	0.012475659
		14	3.665	1.90	133	0.059358752
		26	3.788	1.96	133	0.051519764
	Total (b)	total	4.106	3.86	133	0.000178203
Placebo (N = 44)	Valor de baseline médio		6.585			
	Média dos mínimos quadrados	1	8.053	2.14	43	0.038297488
		2	5.063	1.40	43	0.168857949
		4	6.484	1.72	43	0.092313078
		14	6.383	1.62	43	0.112358382
		26	3.403	0.94	43	0.352152288
	Total (b)	total	5.851	3.49	43	0.001115025

5

Nota: (a) valor P foi baseado no teste T

(b) total foi baseado na média da media dos mínimos quadrados da semana 1 a semana 26

TABELA 14A: C04-001 – Análise de Modelo Misturado de Marcadores de Ativação de Plaqueta; Mudança a partir de Baseline

AGREGAÇÃO DE PLAQUETA – MONÓCITO

População : ITT

Efeito	Grau de Liberdade		Estatística F	Valor P
	Numerador	Denominador		
Plaqueta de baseline	1	104	11.26	0.001105679
Ensaio				
Semana	5	104	1.33	0.255322788
Tratamento	1	104	3.01	0.085849037

5

Nota: Análise baseada em pacientes ITT norte-americanos apenas como descrito no protocolo.

TABELA 14B: C04-001 – Análise de Modelo Misturado de Marcadores de Ativação de Plaqueta; Mudança a partir de Baseline

10

AGREGAÇÃO DE PLAQUETA – NEUTRÓFILO

População : ITT

Efeito	Grau de Liberdade		Estatística F	Valor P
	Numerador	Denominador		
Plaqueta de baseline	1	104	4.28	0.040938932
Ensaio				
Semana	5	104	2.20	0.060319683
Tratamento	1	104	1.21	0.274747130

Nota: Análise baseada em pacientes ITT norte-americanos apenas como descrito no protocolo.

TABELA 14C: C04-001 – Análise de Modelo Misturado de Marcadores de Ativação de Plaqueta; Mudança a partir de Baseline

EXPRESSÃO DE P-SELECTINA

População : ITT

Efeito	Grau de Liberdade		Estatística F	Valor P
	Numerador	Denominador		
Plaqueta de baseline	1	103	9.01	0.003374798
Ensaio				
Semana	5	103	0.91	0.480577712
Tratamento	1	103	0.26	0.613587524

5

Nota: Análise baseada em pacientes ITT norte-americanos apenas como descrito no protocolo.

INCORPORAÇÃO PARA REFERÊNCIA

10 Todas as publicações e patentes mencionadas aqui são, pelo presente, incorporadas para referência em sua totalidade como se cada publicação ou patente individual fosse específica e individualmente indicada para ser incorporada para referência. Em caso de conflito, o presente pedido, incluindo quaisquer definições aqui, irá controlar.

EQUIVALENTES

15 Enquanto modalidades específicas das invenções sujeitas são explicitamente descritas aqui, a especificação acima é ilustrativa e não restritiva. Muitas variações das invenções irão se tornar aparentes aqueles versados na técnica ao revisarem esta especificação e as reivindicações abaixo. O completo escopo das invenções devem ser determinados para referência às reivindicações, juntamente com seu completo escopo de equivalentes, e a especificação, juntamente com tais variações.

## REIVINDICAÇÕES

1. Método para reduzir a ocorrência de trombose em um indivíduo, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o método compreende inibir complemento no indivíduo.

2. Método para reduzir a ocorrência de trombose em um indivíduo que tem um clone de granulócito de PNH e um nível LDH maior do que o limite superior de normal, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o método compreende inibir complemento no indivíduo.

3. Método para aumentar a massa de célula sanguínea vermelha de PNH de um indivíduo, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o método compreende inibir complemento no indivíduo.

4. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 ou 3, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o indivíduo tem um clone de granulócito de PNH.

5. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o indivíduo tem clone de granulócito de hemoglobinúria noturna paroxismal (PNH) maior do que 0,1 % da contagem de granulócito total.

6. Método para reduzir a ocorrência de trombose em um indivíduo que tem um nível de dehidrogenase de lactato (LDH) mais elevado do que normal, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o método compreende inibir complemento no indivíduo.

7. Método, de acordo com a reivindicação 6, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o indivíduo tem um nível de LDH maior do que o limite superior do normal.

8. Método para reduzir a ocorrência de trombose em um indivíduo sofrendo de um nível de óxido nítrico (NO) menor do que o normal, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o método compreende inibir complemento no indivíduo.

9. Método, de acordo com a reivindicação 8, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende administrar um composto a um indivíduo, em que o composto é selecionado do grupo consistindo em: i) compostos que ligam-se a um ou mais componentes complementares, ii) compostos que bloqueiam a geração de um ou mais componentes complementares, e iii) compostos que bloqueiam a atividade de um ou mais componentes complementares, em que o método aumenta os níveis de óxido nítrico (NO) do soro.

10. Método, de acordo com a reivindicação 8, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o método aumenta níveis de NO para maior do que 25%.

11. Método, de acordo com a reivindicação 8, **CARACTERIZADO** pelo fato de o indivíduo tem PNH.

12. Método, de acordo com as reivindicações 1 a 3, 6 ou 8, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o método compreende administrar um composto a um indivíduo, o composto é selecionado do grupo consistindo em: a) compostos que ligam-se a um ou mais componentes complementares, b) compostos que bloqueiam a geração de um ou mais componentes complementares, e c) compostos que bloqueiam a atividade de um ou mais componentes

complementares.

13. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o composto é selecionado do grupo consistindo em anticorpos, compostos inibitórios de complemento solúvel, proteínas, fragmentos de proteína, peptídeos, moléculas pequenas, Aptamers de RNA, L-Aptamers de RNA, spiegelmers, compostos antissentido, inibidores de protease serina, RNA de duplo filamento, RNA de pequena interferência, inibidores de ácido nucléico bloqueado, e inibidores de ácido nucléico de peptídeo.

14. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o composto é selecionado do grupo consistindo em CRI, LEX-CRI, MCP, DAF, CD59, Fator H, fator de veneno de cobra, FUT-175, complestatina, e COOH K76.

15. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o composto i) inibe atividade C5b, ii) inibe clivagem de C5, iii) inibe complemento terminal, iv) inibe atividade de C5a, ou v) inibe ligação de C5a a seu receptor.

16. Método, de acordo com as reivindicações 1 a 3, 6 ou 8, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o indivíduo tem um histórico de um ou mais eventos trombóticos.

17. Método, de acordo com a reivindicação 13, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o composto é um anticorpo ou fragmento de anticorpo.

18. Método, de acordo com a reivindicação 17, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o anticorpo ou fragmento de anticorpo é selecionado do grupo consistindo em um anticorpo policlonal, um anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo, um dícorpo, um anticorpo quimerizado ou quimérico ou fragmento de anticorpo, um anticorpo humanizado ou fragmento de anticorpo, um anticorpo humano desimunizado ou fragmento de anticorpo, um anticorpo completamente humano ou fragmento de anticorpo, um anticorpo de cadeia simples, um Fv, um Fab, um Fab', um Fd, e um F(ab')<sub>2</sub>.

19. Método, de acordo com as reivindicações 1 a 3, 6 ou 8, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o método reduz taxas de tromboembolismo para maior do que 25%.

20. Método, de acordo com as reivindicações 1 a 3, 6 ou 8, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o método resulta em pelo menos uma redução de 25% em níveis de LDH.

21. Método, de acordo com a reivindicação 12, em que adicionalmente compreende administrar um segundo composto, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o segundo composto aumenta hematopoiese.

22. Método, de acordo com a reivindicação 21, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o segundo composto é selecionado do grupo consistindo em esteróides, imunossuppressores, anticoagulantes, ácido fólico, ferro, eritropoietina (EPO), EPO pegylado, Miméticas de EPO, Aranesp®, agentes de estimulação de eritropoiese, globulina antitimócito (ATG) e globulina antilinfócito (ALG).

23. Método, de acordo com a reivindicação 22, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que



EPO é administrado com um anticorpo anti-C5.

24. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que adicionalmente compreende administrar um composto antitrombótico.

5 25. Método para determinar se um indivíduo tendo um distúrbio hemolítico é suscetível à trombose compreendendo medir o tamanho de clone de granulócito de PNH do indivíduo, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que se o tamanho do clone for maior do que 0,1% então o indivíduo é suscetível à trombose.

26. Método para tratar anemia hemolítica em um indivíduo, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o método compreende inibir complemento no indivíduo.

10 27. Método, de acordo com a reivindicação 26, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o método compreende administrar o composto ao indivíduo, em que o composto é selecionado do grupo consistindo em: i) compostos que ligam-se a um ou mais componentes complementares, ii) compostos que bloqueiam a geração de um ou mais componentes complementares, e iii) compostos que bloqueiam a atividade de um ou mais componentes complementares, em que o método aumenta a massa de células sanguíneas vermelhas (RBC).

15 28. Método, de acordo com a reivindicação 27, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que a massa de RBC é medida como o número absoluto de RBCs.

29. Método, de acordo com a reivindicação 27, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que a massa de RBC é massa de RBC com PNH.

20 30. Método, de acordo com a reivindicação 29, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o método aumenta a massa de RBC para maior do que 10%.

31. Método, de acordo com a reivindicação 26, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o método diminui exigências de transfusão.

25 32. Método, de acordo com a reivindicação 26, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o método estabiliza níveis de hemoglobina.

33. Método, de acordo com a reivindicação 26, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o método causa um aumento nos níveis de hemoglobina.

Figura 1A

Parâmetros bioquímicos de hemólise durante tratamento com eculizumab

Marcador bioquímico	Faixa normal	Tempo de Análise			p-valor <sup>a</sup>
		Pré-estudo <sup>b</sup>	12 semanas	64 semanas	
LDH (IU/L)	150 - 480	3110.7 +/- 598.4	594.0 +/- 31.7	622.4 +/- 41.1	0.002
AST (IU/L)	10 - 40	76.2 +/- 16.0	26.2 +/- 2.3	30.1 +/- 3.2	0.02
Haptoglobina (g/L)	0.5 - 2	<0.06	<0.06	0.14 +/- 0.07 <sup>c</sup>	N.S. <sup>d</sup>
Hemoglobina (g/dL)	11.5 - 18	10.0 +/- 0.4	10.3 +/- 0.4	10.4 +/- 0.4	N.S.
Bilirrubina	3 - 15	25.9 +/- 4.3	28.2 +/- 4.4	28.7 +/- 4.0	N.S.
Reticulocyte (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	20 - 80	161.4 +/- 25.9	191.2 +/- 23.6	189.6 +/- 21.8	N.S.

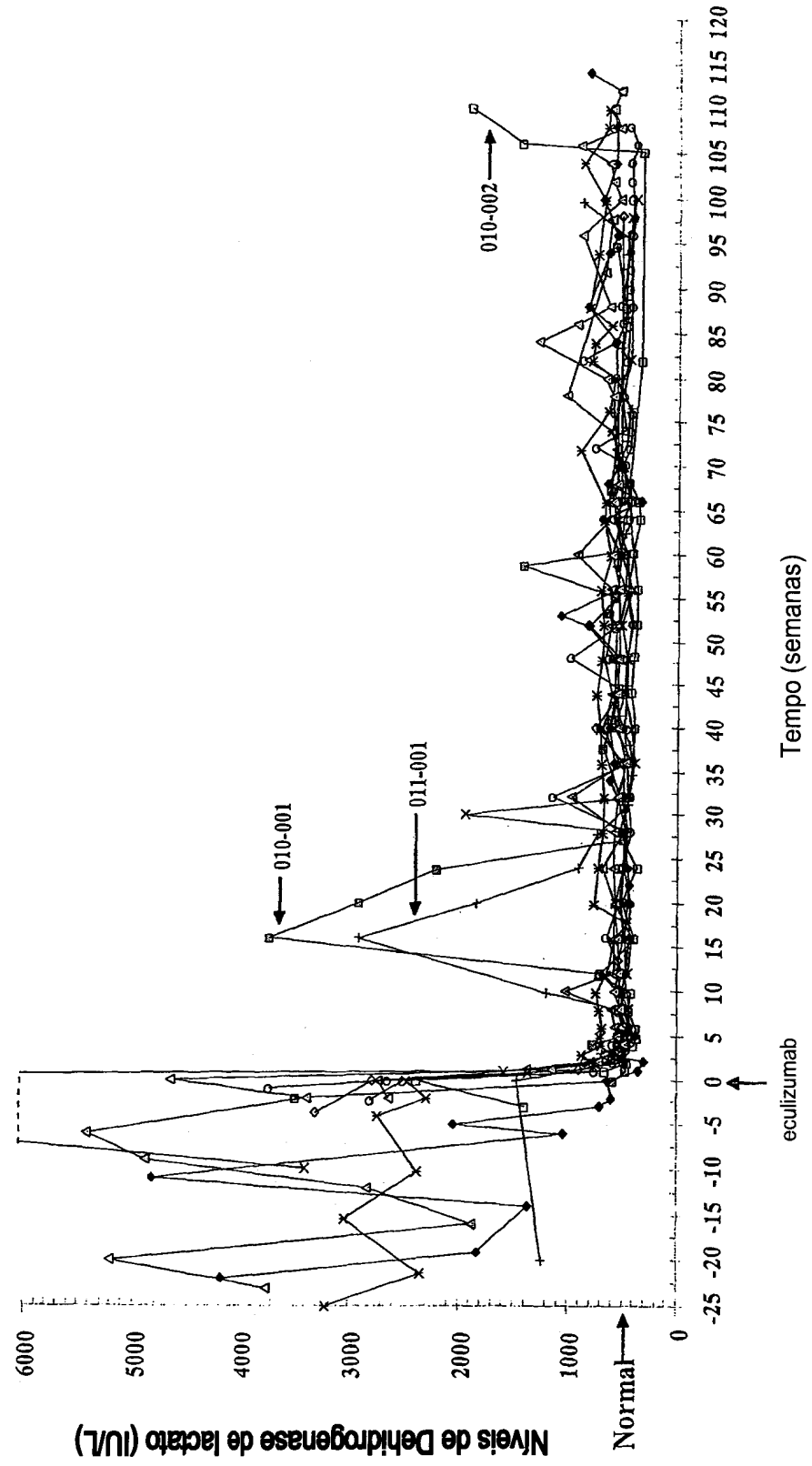
<sup>a</sup> a partir de comparações de mudança de média proveniente de pré-estudo para 64 semanas

<sup>b</sup> valores representam médias durante um período de 52 semanas antes do tratamento exceto para AST que representa a média de baselina

<sup>c</sup> 10 de 11 pacientes estavam abaixo do limite detectável de haptoglobina (<0,06 g/L); 1 paciente teve um valor de 0,69 g/L.

<sup>d</sup> sem significância

Figura 1B



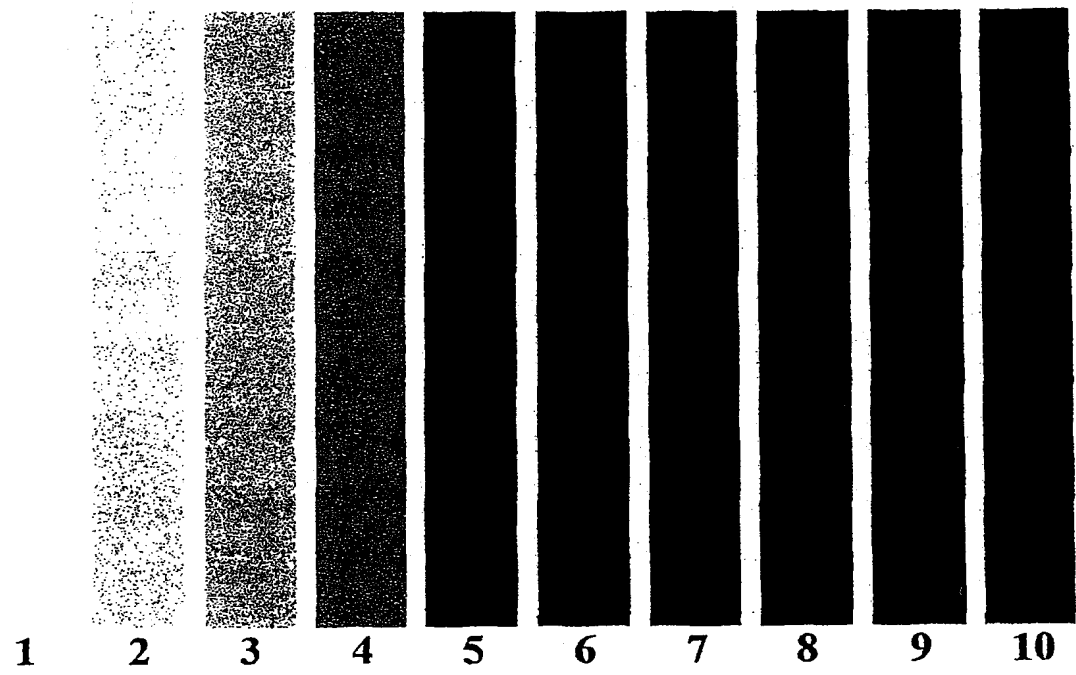
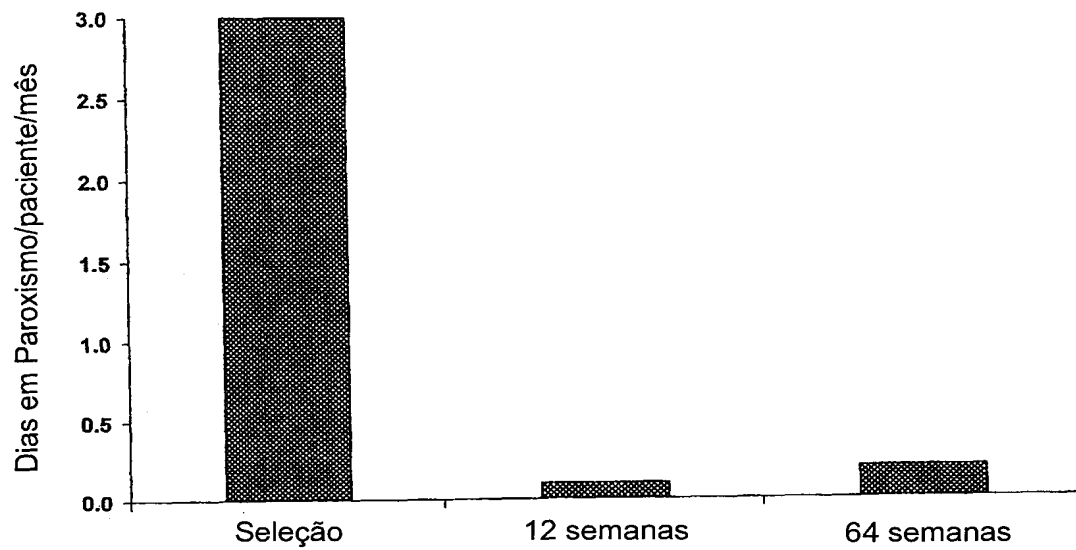


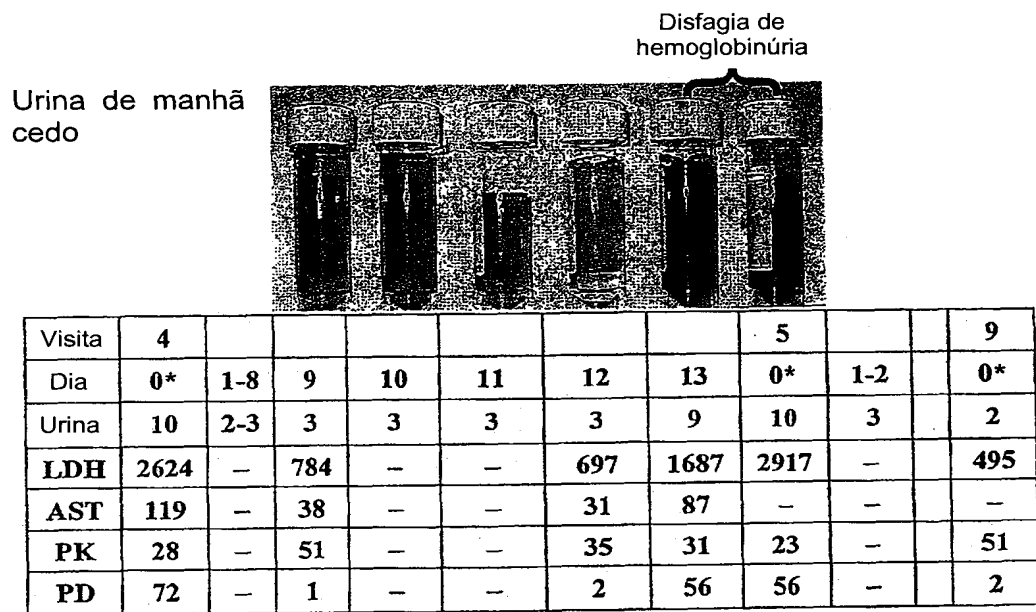
Figura 2

Figura 3  
Efeito de Eculizumab sobre a taxa de paroxismo (n=8)



Barras representam as taxas de paroxismo (número de paroxismos por paciente por mês) durante o período de seleção (tratamento com pré-eculizumab), e durante as primeiras 12 semanas e as 64 semanas inteiras de tratamento com eculizumab. Três pacientes não foram incluídos na análise assim como o pré-tratamento de resultados de urina foram inadvertidamente não coletados (2 pacientes) ou um agente quelante de ferro que resultou em urina colorida artificialmente foi administrado durante o estudo de extensão (1 paciente).

Figura 4  
Análise de descoberta científica complementar



\*Dose de eculizumab

Fig. 5 Grau de urina 010-010 de paciente vs tempo

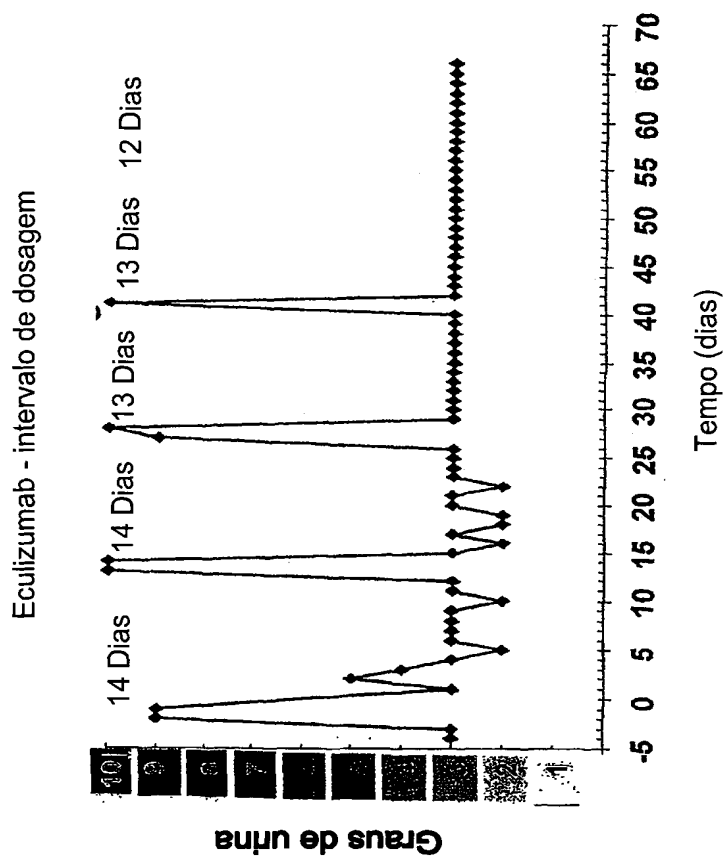


Figura 6A

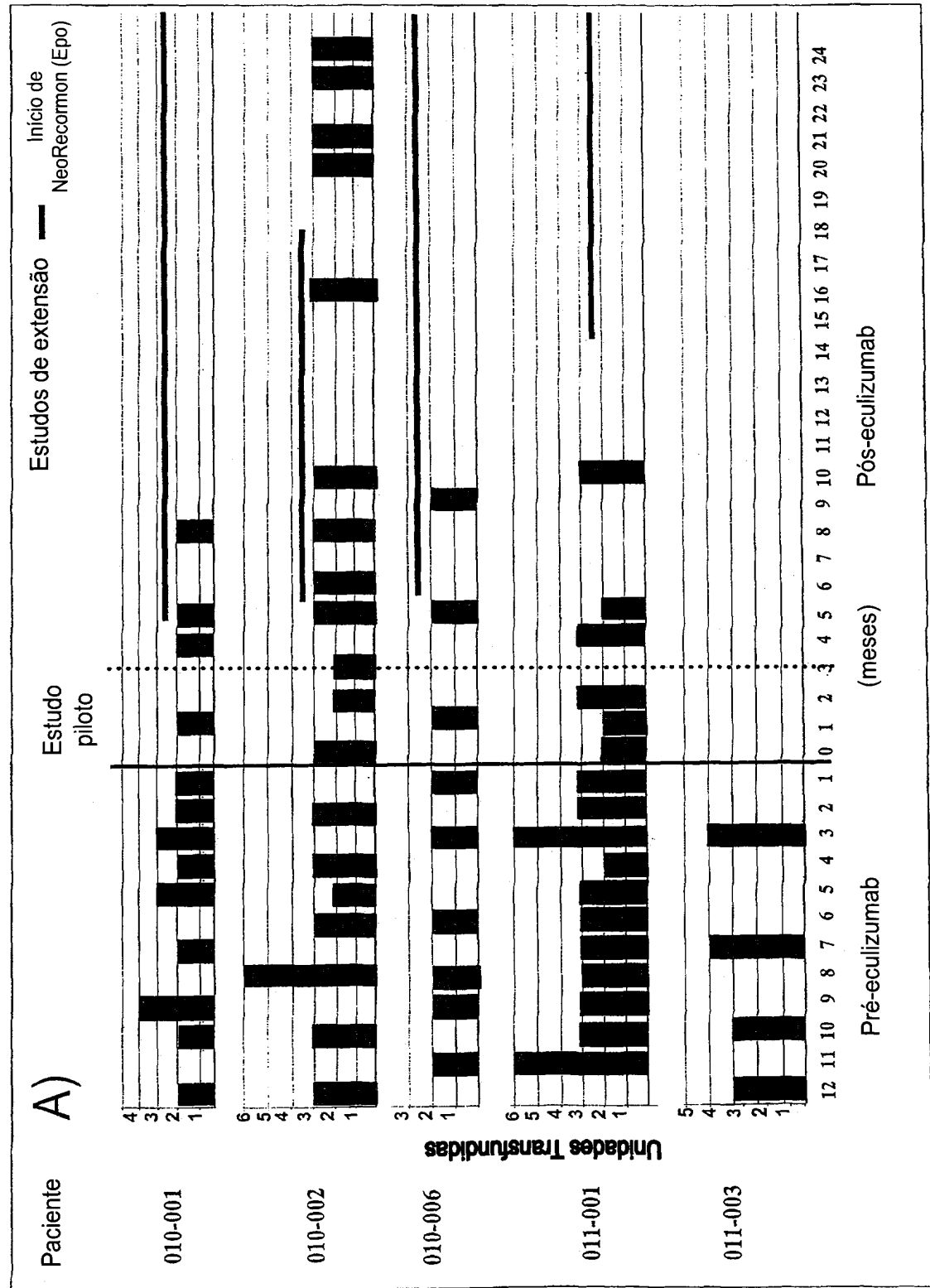




Figura 6B

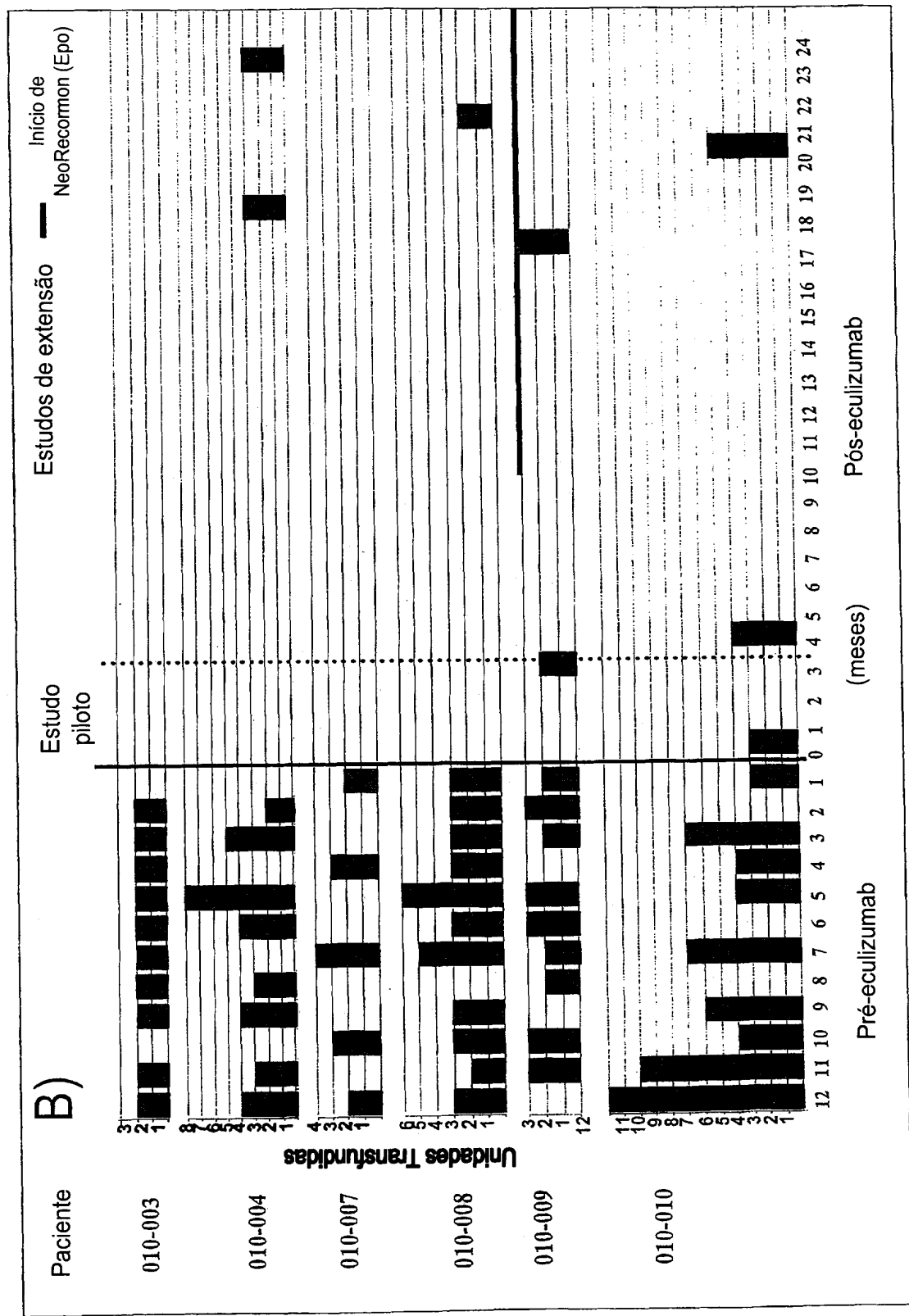
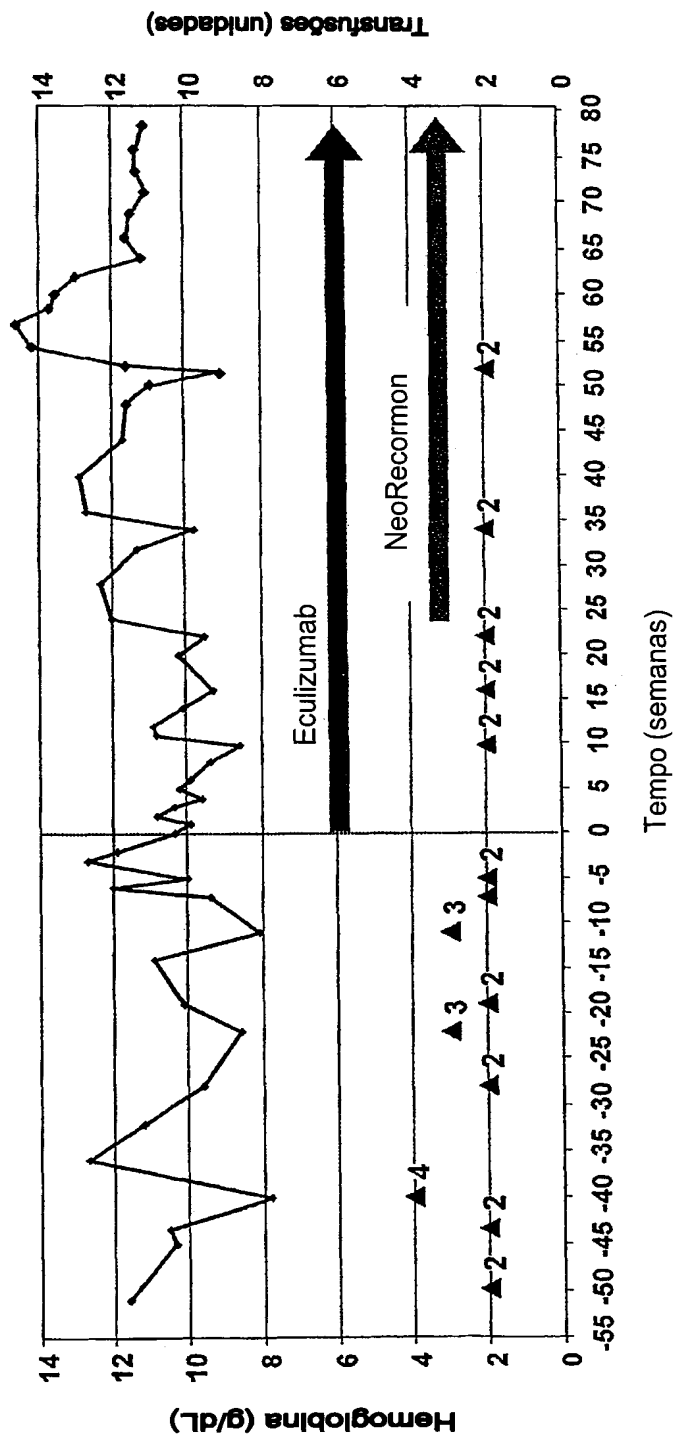


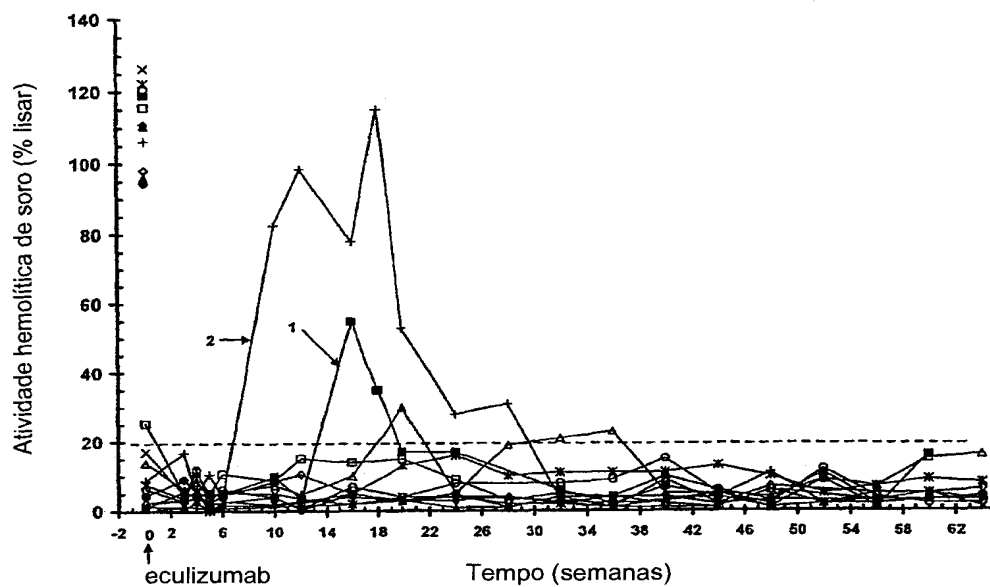
Figura 7 Gerenciamento de paciente trombocitopênico com eritropoietina

Paciente 010-001(hipoplástico; plaquetas 80 a  $100 \times 10^9/l$ )



Transfusões reduzidas com eculizumab e independência de transfusão com eculizumab e eritropoietina combinada (NeoRecormon 18,000U 3x/semana)

Figura 8  
Pré- e pós-dose de Farmacodinâmicas de Eculizumab



A figura 8 mostra atividade hemolítica de soro (PD) durante o período de tratamento de 64 semanas como determinado pela capacidade do soro de lisar eritrócitos de galinha pré-sensibilizados por anticorpo. A percentagem de atividade hemolítica na qual o complemento é considerado ser efetivamente inibido ( ) é indicada pela linha pontilhada. Dois pacientes que demonstraram através de valores de atividade hemolítica de soro menores que 20% são identificados (pacientes 1 e 2).

Figura 9

Pré- e pós-dose de Farmacodinâmicas de Eculizumab

Domínio (a)	Resultado de linha base médio (b)	Mudança de 64 semanas a partir da linha base (c)	p-valor (d)
Status de saúde global	56.1	13.8	0.009
Funcionalidade física	70.9	14.3	<0.001
Funcionalidade emocional	70.5	12.5	<0.001
Funcionalidade de funções	66.7	14.5	0.003
Funcionalidade cognitiva	77.3	10.3	0.001
Fatiga	47.5	-17.8	<0.001
Dispneia	39.4	-16.6	0.002
Insônia	30.3	-8.2	0.031
Dor	21.2	-8.2	0.023
Constipação	3.0	4.1	<0.001

- a) a qualidade de vida foi avaliada usando o instrumento QLQ-C30 da Organização Européia para Pesquisa e Tratamento de Câncer
- b) números representam valores médios de resultados transformados linearmente
- c) valores representam média dos mínimos quadrados; mudança positiva indica melhoramento para Status de Saúde Global e Escalas Funcionais enquanto uma mudança negativa indica melhoramento para Escalas de Sintoma
- d) valores são provenientes de um modelo de análise de covariância misturada com visita como um efeito fixado, paciente como um efeito aleatório, e baselina como uma covariável.

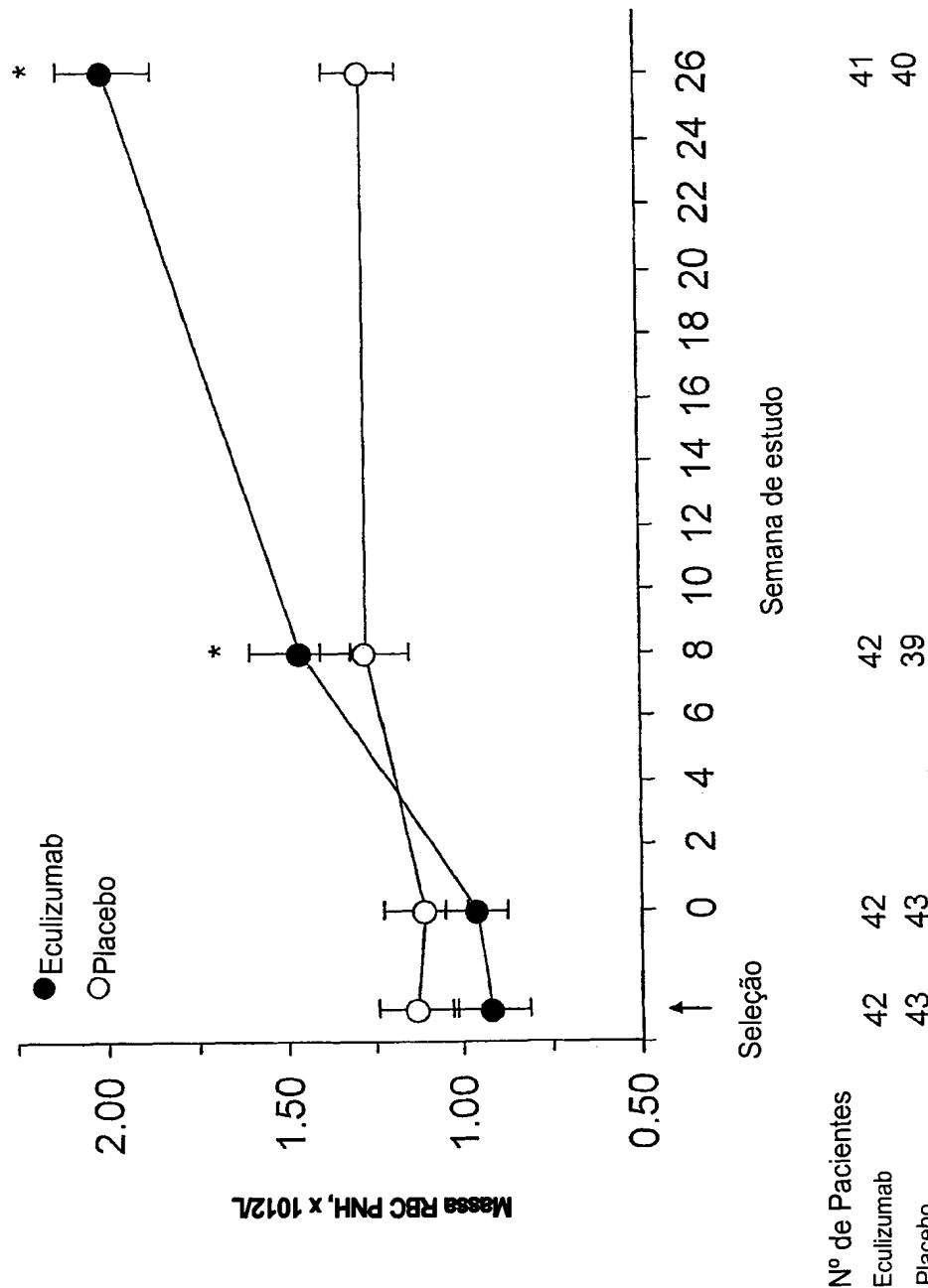
Figura 10

## Sintomas Pré- e 2 anos Pós-Eculizumab

Paciente	Pré-Eculizumab			Pós-Eculizumab		
	Dor Abdominal	Disfagia	Disfunção erétil	Dor Abdominal	Disfagia	Disfunção erétil
010-001	a cada 4 – 8 semanas	a cada 4 – 8 semanas	a cada 4 – 8 semanas	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma
010-002	Nenhuma	Nenhuma	---	Nenhuma	Nenhuma	---
010-003	a cada semana	a cada semana	a cada semana	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma
010-004	a cada 4 – 6 semanas	Nenhuma	---	Nenhuma	Nenhuma	---
010-006	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma
010-007	Nenhuma	a cada 4 semanas pelo menos	---	Nenhuma	Nenhuma	---
010-008	Nenhuma	a cada 10 semanas	a cada 10 semanas	Nenhuma	Nenhuma	Intermittent
010-009	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma
010-010	a cada 4 semanas	a cada 4 semanas	Nenhuma	Nenhuma	2 episódios em 02 anos*	Nenhuma
011-001	Nenhuma	Nenhuma	---	Nenhuma	Nenhuma	---
011-003	Nenhuma	Nenhuma	---	Nenhuma	Nenhuma	---

\*Este paciente sofreu uma perfuração transiente em bloqueio complementar com um retorno de hemólise e sintomas. Aumentando a frequência de dosagem para 12 dias reestabeleceu bloqueio complementar completo e evitou sintomas adicionais.

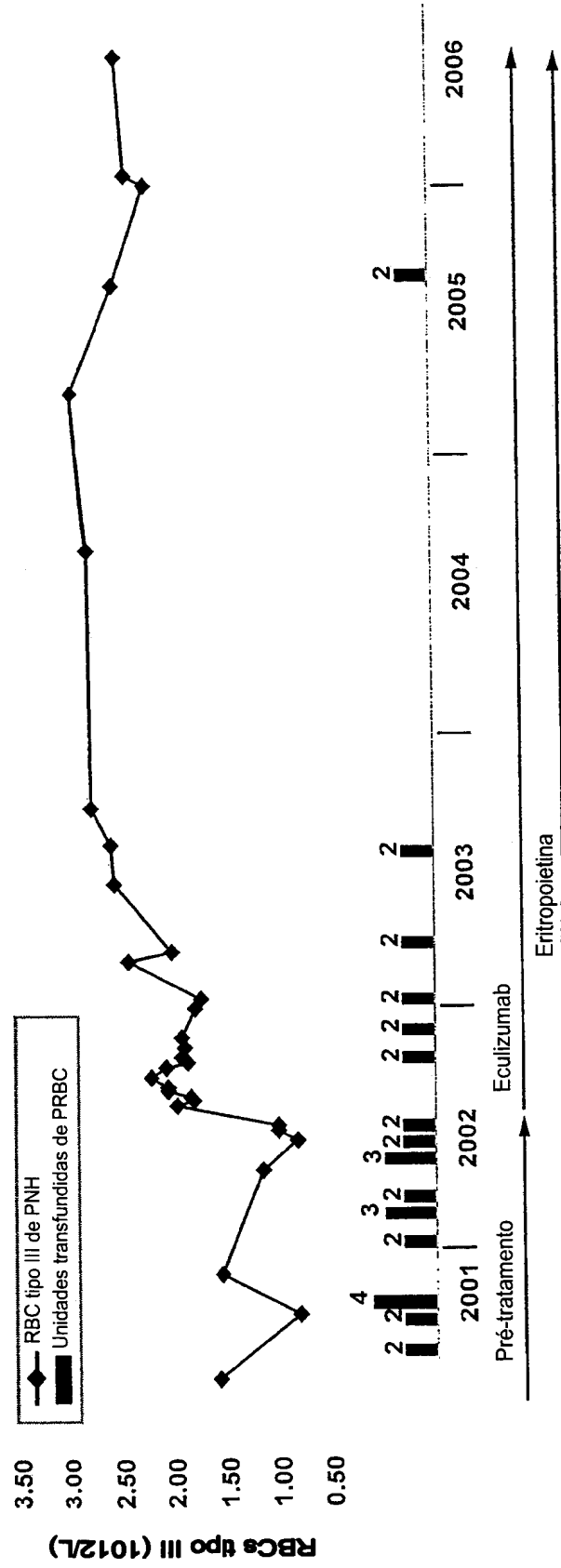
Figura 11



Massa RBC PNH = (proporção de PNH RBCs) x (número total de RBCs) ÷ 100.

\*P < 0,001, com base em um teste de soma de classificação Wilcoxon

Figura 12







## RESUMO

### “MÉTODOS PARA TRATAR ANEMIA HEMOLÍTICA”

Hemoglobinúria noturna paroxismal ou outras doenças hemolíticas são tratadas usando um composto que liga-se a, ou de outra maneira, bloqueia a geração e/ou a atividade de um ou mais componentes complementares, tais como, por exemplo, um anticorpo que inibe complemento.