



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0708909-0 B1



(22) Data do Depósito: 15/03/2007

(45) Data de Concessão: 09/02/2021

(54) Título: USO DE UM ANTICORPO QUE SE LIGA A C5 PARA TRATAR UM PACIENTE QUE SOFRE DE HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA

(51) Int.Cl.: A61K 31/7105; A61K 38/00; A61K 39/395; A61P 7/06.

(30) Prioridade Unionista: 15/03/2006 US 60/783,070.

(73) Titular(es): ALEXION PHARMACEUTICALS, INC..

(72) Inventor(es): LEONARD BELL; RUSSEL P. ROTHER.

(86) Pedido PCT: PCT US2007006606 de 15/03/2007

(87) Publicação PCT: WO 2007/106585 de 20/09/2007

(85) Data do Início da Fase Nacional: 12/09/2008

(57) Resumo: COMPOSTO UTILIZADO NA PREPARAÇÃO DE UM MEDICAMENTO PARA TRATAMENTO DE PACIENTES COM HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA ATRAVÉS DE UM INIBIDOR DE COMPLEMENTO. Eculizumab, um anticorpo monoclonal humanizado contra C5 que inibe a ativação do complemento terminal, mostrou atividade em uma triagem de marcação aberta de 12 semanas preliminar em um pequeno grupo de pacientes com hemoglobinúria paroxística noturna (HPN). O presente estudo examinou se a terapia crônica com eculizumab pode reduzir hemólise intravascular, estabilizar níveis de hemoglobina, reduzir requerimentos de transfusão, e melhorar a qualidade de vida em uma triagem global de Fase III do tipo duplo-cego, aleatória, placebo-controlado, multi-cêntrica. Tem sido encontrado que eculizumab estabilizou os níveis de hemoglobina, diminui a necessidade de transfusões, e melhorou a qualidade de vida em pacientes HPN através de uma via de hemólise intravascular reduzida. Tratamento crônico com eculizumab aparenta ser uma terapia segura e eficaz para PNH.

“USO DE UM ANTICORPO QUE SE LIGA A C5 PARA TRATAR UM
PACIENTE QUE SOFRE DE HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA”

ANTECEDENTE

[001] Hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) é uma doença hematológica adquirida que resulta de expansão clonal de células tronco hematopoiéticas com mutações somáticas no gene ligado a X chamado PIG-A.^{1,2} Mutações em PIG-A leva a um bloqueio precoce na síntese de âncoras de glicosilfosfatidilinositol (GPI), que são requeridos para unir muitas proteínas à superfície celular. Consequentemente, células sanguíneas HPN têm uma deficiência completa (tipo III) ou parcial (II) de proteínas ancorados a GPI.

[002] Hemólise intravascular é uma característica proeminente de HPN e um resultado direto da ausência da proteína CD59 regulatória do complemento ancorada a GPI.^{3,4} Sob circunstâncias normais, CD59 bloqueia a formação do complexo complemento terminal (também chamado de complexo de ataque da membrana) na superfície celular, assim prevenindo a lise de eritrócito e ativação de plaqueta.⁵⁻⁸ Hemólise intravascular persistente ou excessiva em pacientes HPN não somente resulta em anemia (variações normais de hemoglobina são 14-18 g/dL homens e 12-16 g/gL para mulheres, e pessoas com níveis mais baixos são considerados anêmicos), mas também hemoglobinúria e sequelas clínicas relacionadas a liberação do conteúdo de eritrócito na circulação: fadiga, trombose, dor abdominal, disfagia, disfunção erétil, e hipertensão pulmonar.^{9,10,21,22} De fato, qualidade impedida de vida em HPN é desproporcional do grau de anemia. Muitos pacientes HPN dependem de transfusões de sangue para manter níveis de eritrócitos adequados. Têm havido terapias que efetivamente reduzem a hemólise intravascular reduzido e aumento das morbidades clínicas associadas em HPN.

[003] Eculizumab é um anticorpo monoclonal humanizado direcionado contra a proteína terminal do complemento C5.¹¹ Em um estudo clínico preliminar, de 12

semanas, de marcação aberta em 11 pacientes HPN, eculizumab foi mostrado reduzir hemólise intravascular e requerimento de transfusão.¹² Entretanto, este estudo não cego envolveu um pequeno número de pacientes com nenhum braço controle e sem padrões de transfusão dirigido ao protocolo.

RESUMO

[004]O presente principal estudo de fase III, Eficácia na Redução de Transfusão e Segurança da Investigação Clínica, Aleatória, Multi-Centro, Duplo-Cego, Controle de Placebo, Utilizando Eculizumab na Hemoglobinúria Paroxística noturna (TRIUMPH), avaliou o efeito do eculizumab na estabilização dos níveis de hemoglobina e requerimentos de transfusão durante 6 meses de tratamento em um grupo de 87 de pacientes HPN dependentes de transfusão. Medidas de hemólises intravasculares e qualidade de vida foram também acessadas. Este é o primeiro estudo controlado por placebo de uma população de paciente HPN para controle da hemólise e para diferenciar entre os efeitos devidos a hemólise e os efeitos devido a anemia.

[005]Tem sido surpreendentemente descoberto que certos aspectos de qualidade de vida foram inesperadamente melhorados pelo tratamento de pacientes HPN com eculizumab. Além disso, esses melhoramentos na qualidade de vida foram independentes de transfusão. Os aspectos melhorados incluem, por exemplo estado geral de saúde, funcionamento físico, funcionamento emocional, funcionamento cognitivo, funcionamento funcional, funcionamento social, fadiga, dor, dispnéis, perda de apetite e insônia. Melhoramento foi também visto em náusea e vômito, diarreia, constipação, e dificuldades financeiras, mas não alcança o nível de significância estatística. Porque os pacientes tratados permaneceram anêmicos através do seu tratamento, foi inesperado que todos esses melhoramentos pudessem ter sido vistos porque eles foram previamente pensados serem uns resultados do paciente sendo anêmico. Embora não desejando estar ligado a qualquer teoria, parece que alguns dos sintomas são provavelmente devido, pelo menos em parte, a hemólises e libera-

ção de hemoglobina na corrente sanguínea e não resultar somente do paciente ser anêmico. O tratamento com eculizumab diminui a quantidade de lise assim limitando a liberação de hemoglobina na corrente sanguínea, assim aparentemente resultando em melhoramento visto na qualidade de vida dos pacientes tratados. Os resultados apresentados aqui indicam que qualquer tratamento que diminua a hemólise em um paciente resultará em um melhoramento na qualidade de vida do referido paciente.

[006]Em certos aspectos, o pedido provê um método para aumentar pelo menos um aspecto da qualidade de vida de um paciente sofrendo de hemoglobinúria paroxística noturna, o referido método compreendendo administração ao referido paciente em necessidade do mesmo de um composto que inibe o complemento ou inibe a formação de C5b-9.

[007]Em certos aspectos, o pedido provê um método para melhorar pelo menos um aspecto da qualidade de vida de um paciente sofrendo de hemoglobinúria paroxística noturna, o referido método compreendendo administração ao referido paciente em necessidade do mesmo um composto que inibe a hemólise intravascular. Em certas modalidades, o referido método resulta em uma redução maior que 30% no LDH do referido paciente.

[008]Em certos aspectos, o pedido provê um método para melhorar pelo menos um aspecto da qualidade de vida de um paciente anêmico cuja anemia resulta pelo menos em parte de hemólise, o referido método compreendendo a administração ao referido paciente em necessidade do mesmo um composto que inibe a hemólise intravascular, em que o referido paciente permanece anêmico. Em certas modalidades, o referido método resulta em uma redução maior que 30% no LDH do referido paciente.

[009]Em certos aspectos, o pedido provê um método de prolongamento da expectativa de vida ajustada a saúde de um paciente compreendendo administração ao referido paciente em necessidade do mesmo um composto que inibe a formação

de C5b-9. Em certas modalidades, o referido paciente é anêmico. Em certas modalidades, o referido paciente permanece anêmico seguindo o tratamento. Em certas modalidades, o referido paciente tem um nível de hemoglobina menor que j) 14 g/dL se um homem ou ii) 12 g/dL se uma mulher. Em certas modalidades, o referido paciente tem um nível de hemoglobina menor que i) 13 g/dL se um homem ou ii) 11 g/dL se uma mulher. Em certas modalidades, o referido paciente tem um nível de hemoglobina menor que i) 12 g/dL se um homem ou ii) g/dL se uma mulher. Em certas modalidades, o referido paciente sofre de hemoglobinúria paroxística noturna.

[010]Em certos aspectos, o pedido provê uma composição farmacêutica compreendendo um anticorpo que liga a C5 ou um fragmento de anticorpo ativo do mesmo. Em certas modalidades, o anticorpo que liga C5 ou um fragmento de anticorpo ativo do mesmo é eculizumab. Em certas modalidades, o anticorpo que liga C5 ou um fragmento de anticorpo ativo do mesmo é pexelizumab. Em certas modalidades, as formulações farmacêuticas do pedido podem ser administradas a um paciente, particularmente um paciente tendo HPN.

[011]Em certos aspectos, o pedido provê um método de tratamento de um paciente sofrendo de hemoglobinúria noturna peroxismal por administração de uma composição farmacêutica compreendendo um anticorpo que liga C5 ou um fragmento de anticorpo ativo do mesmo. Em certas modalidades, o anticorpo que liga C5 ou um fragmento de anticorpo ativo do mesmo é eculizumab. Em certas modalidades, o anticorpo que liga C5 ou um fragmento de anticorpo ativo do mesmo é pexelizumab. Em certas modalidades, as formulações farmacêuticas do pedido podem ser administradas a um paciente, particularmente um paciente tendo HPN.

[012]Em certos aspectos, o pedido provê kits compreendendo uma composição farmacêutica do pedido. Em algumas modalidades, o kit ainda compreende pelo menos um componente de um sistema estéril fechado. Componentes do sistema estéril fechado incluem, mas não são limitados a agulhas, seringas, seringas basea-

das em catéter, dispositivos de injeção baseados em agulha, dispositivos de injeção sem agulha, filtros, tubos, válvulas e cânulas. Em uma modalidade relatada, o kit compreende componentes para remoção de um conservante a partir da composição. Tais componentes compreendem incluem filtros, seringas, frascos, recipientes, tubos etc.

[013]Em certas modalidades, a referida qualidade de vida é medida por um índice FACIT-Fatigue. Em certas modalidades, o índice FACIT-Fatigue aumenta por pelo menos 3 pontos. Em certas modalidades, o índice FACIT-Fatigue aumenta ≥ 4 pontos.

[014]Em certas modalidades, a referida qualidade de vida é medida por um índice EORTC QLQ-C30. Em certas modalidades, o referido aspecto da qualidade de vida como medido por um índice EORTC QLQ-30 é selecionado do grupo consistindo de a) estado de saúde geral, b) funcionamento físico, c) funcionamento emocional, d) funcionamento cognitivo, e) funcionamento role, f) funcionamento social, g) fadiga, h) dor, i) dispnéia, j) perda de apetite, e k) insônia. Em certas modalidades, o referido aspecto de qualidade de vida é fadiga.

[015]Em certas modalidades, o referido composto é selecionado do grupo consistindo de CR1, LEX-CR1, MCP, DAF, CD59, Fator H, fator veneno de cobra, FUT-175, complestatina, e K76 COOH. Em certas modalidades, o referido composto é um esteróide que suprime o complemento.

[016]Em certas modalidades, o referido composto é selecionado do grupo consistindo de anticorpos, fragmentos de anticorpos ativos, composto inibitórios do complemento solúvel, proteínas, inibidores do complemento solúveis com uma cauda lipídica, fragmentos de proteína, peptídeos, pequenos compostos orgânicos, aptâmeros de RNA, aptâmeros de L-RNA, pequenos interferentes de RNA, inibidores de ácido nucléico fechados, e inibidores de ácido nucléico peptídico. Em certas modalidades, o referido composto é um anticorpo ou um fragmento de anticorpo ativo. Em cer-

tas modalidades, o referido anticorpo ou fragmento de anticorpo ativo é selecionado do grupo consistindo de a) anticorpos policlonais, b) anticorpos monoclonais, anticorpos de cadeia simples, d) anticorpos quiméricos, e) anticorpos humanizados, f) Fabs, g) F(ab')s, h) F(ab')₂s, i) Fvs, j) anticorpos bivalentes, e k) anticorpos humanos.

[017]Em certas modalidades, o referido anticorpo ou fragmento de anticorpo ativo do mesmo liga a C5. Em certas modalidades, o referido anticorpo ou fragmento de anticorpo ativo bloqueia a quebra de C5. Em certas modalidades, o referido anticorpo ou fragmento de anticorpo ativo inibe a formação de C5b-9. Em certas modalidades, o referido anticorpo é eculizumab. Em certas modalidades, o referido anticorpo ou fragmentos de anticorpo ativo é administrado por pelo menos 6 meses. Em certas modalidades, o referido paciente tem uma anemia aplástica ou síndrome mielodisplásica.

[018]Em certas modalidades, o referido anticorpo que liga C5 ou um fragmento de anticorpo ativo do mesmo é administrado em uma forma de dosagem única. Em certas modalidades, a dose única é uma forma de dosagem única de 300 mg. Em certas modalidades, A forma de dosagem única é uma solução estéril. Em certas modalidades, a forma de dosagem única é uma formação livre de conservante. Em certas modalidades, a forma de dosagem de uso único de 300 mg compreende 30 mL de uma solução livre de conservante, estéril de 10 mg/mL.

[019]Em certas modalidades, o anticorpo que liga a C5 ou um fragmento de anticorpo ativo do mesmo compreende uma região constante alterada, em que o referido anticorpo ou fragmento ligante de antígeno exibe diminuição da função efetora relativa ao anticorpo anti-CDCP1 com uma região constante nativa. Em certas modalidades, função efetora diminuída compreende uma ou mais propriedades dos seguintes grupos: a) citotoxicidade mediada por célula dependente de anticorpo (CCDA) diminuída, e b) citotoxicidade dependente de complemento (CDC) diminuída, comparada a um anticorpo anti-CDCP1 com uma região constante nativa. Em

certas modalidades, a região constante alterada compreende uma construção G2/G4 no lugar do domínio G1.

[020]Em certas modalidades, o anticorpo que liga C5 ou um fragmento de anticorpo ativo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada e uma região variável de cadeia leve, em que a região variável de cadeia pesada compreende uma ou mais regiões CDR tendo uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo consistindo de SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, ou SEQ ID NO:7, e em que a região variável de cadeia leve compreende uma ou mais regiões CDR tendo uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo consistindo de SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, ou SEQ ID NO:10. Em certas modalidades, o anticorpo que liga C5 ou um fragmento de anticorpo ativo do mesmo compreende uma região de cadeia pesada variável e uma região de cadeia leve variável, em que a região de cadeia pesada variável consiste de SEQ ID NO:1 e a região de cadeia variável leve consiste de SEQ ID NO:3. Em certas modalidades, a composição farmacêutica compreende eculizumab. Em certas modalidades, o anticorpo se liga a C5 ou um fragmento de anticorpo ativo do mesmo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve, em que a cadeia pesada consiste na SEQ ID NO:2 e a cadeia leve consiste na SEQ ID NO:4.

[021]Em certas modalidades, o referido paciente é anêmico. Em certas modalidades, o referido paciente permanece seguindo o tratamento. Em certas modalidades, o referido paciente tem um nível de hemoglobina menor que i) 14 g/dL se um homem ou ii) 12 g/dL se uma mulher. Em certas modalidades, o referido paciente tem um nível de hemoglobina menor que i) 13 g/dL se um homem ou ii) 11 g/dL se uma mulher. Em certas modalidades, o referido paciente tem um nível de hemoglobina menor que i) 12 g/dL se um homem ou ii) 10 g/dL se uma mulher

[022]Em certas modalidades, a expectativa de vida ajustada a saúde é medida de acordo com uma unidade selecionada do grupo consistindo de Anos de po-

tencial de vida perdida, Expectativa de vida livre de deficiência, ano de vida ajustado a saúde, ano de vida ajustado a qualidade, anos saudáveis equivalentes, dias de saúde ganhos, dia livre de episódio, Q-TWiST, índice de Utilidade de Saúde, ou Anos de Vida Saudável.

[023]Em certas modalidades, a expectativa de vida ajustada a saúde em um paciente é prolongada por pelo menos um dia. Em certas modalidades, a expectativa de vida ajustada a saúde em um paciente é prolongada por pelo menos uma semana. Em certas modalidades, a expectativa de vida ajustada a saúde em um paciente é prolongada por pelo menos um mês. Em certas modalidades, a expectativa de vida ajustada a saúde em um paciente é prolongada por pelo menos um ano.

[024]Em certas modalidades, a composição farmacêutica está na forma de dosagem única. Em certas modalidades, a forma de dosagem única é uma forma de dosagem única de 300 mg. Em certas modalidades, a composição farmacêutica é liofilizada. Em certas modalidades, a composição farmacêutica é uma solução estéril. Em certas modalidades, a composição farmacêutica é uma formulação livre de conservante. Em certas modalidades, a composição farmacêutica compreende uma formulação de uso único de 300 mg de 30 mL de uma solução livre de conservante, estéril de 10 mg/mL. Em certas modalidades, a composição farmacêutica compreende um anticorpo que liga a C5 ou um fragmento de anticorpo ativo do mesmo.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[025]Figuras 1A-B mostram que tratamento com eculizumab diminui a hemólise intravascular e aumenta eritrócitos do tipo III HPN. Figura 1A mostra o grau de hemólise intravascular em pacientes HPN, demonstraram por meio de níveis de desidrogenase láctica (LDH). Figura B mostra a proporção média de eritrócitos do tipo III HPN avaliadas para pacientes tratados com eculizumab e placebo.

[026]Figura 2 mostra efeito do tratamento de eculizumab no requerimento de transfusão em pacientes HPN. Este é um gráfico Kaplan-Meier de tempo para a pri-

meira transfusão para pacientes tratados por eculizumab e placebo a partir da linha de base através da semana 26. O valor de P é a partir do grau log.

[027]Figura 3 mostra o efeito do eculizumab na avaliação da fadiga pelo Instrumento FACIT-Fatigue. Índices de qualidade de vida foram avaliados utilizando o instrumento de Avaliação Funcional de Terapia de Doença Crônica – Fatigue (FACIT-Fatigue). Valores para mudança a partir da linha de base para 26 semanas representam médias mínimas quadradas. Uma mudança positiva indica uma melhoria e uma mudança negativa indica deterioração nas medidas FACIT-Fatigue de qualidade de vida.

DESCRIÇÃO DETALHADA

1. Definições

[028]O termo “derivado de” significa “obtido de” ou “produzido por” ou “descendendo de”.

[029]O termo “anticorpos geneticamente alterados” significam anticorpos em que a sequência de aminoácidos tem sido variada a partir de uma de um anticorpo nativo. Por causa da relevância das técnicas de DNA recombinante a esta aplicação, uma necessidade não confinada das sequências de aminoácidos encontradas em anticorpos naturais; anticorpos podem ser redesenhados para obter características desejadas. As possíveis variações são muitas e variam da mudança de somente um ou uns poucos aminoácidos ao redesenho completo de, por exemplo, a região variável ou constante. Mudanças na região constante serão em geral feitas a fim de melhorar ou alterar características, tais como fixação do complemento, interação com membranas e outras funções efectoras. Mudanças na região variável serão feitas a fim de aumentar as características de ligação do antígeno.

[030]O termo “fragmento de ligação de antígeno de um anticorpo” refere-se a qualquer porção de um anticorpo que retenha a utilidade de ligação ao antígeno. Um fragmento de ligação de antígeno exemplar de um anticorpo é a cadeia pesada e/ou

cadeia leve CDR, ou a região de cadeia variável pesada e/ou leve.

[031]O termo “homólogo”, no contexto de dois ácidos nucléicos ou polipeptídeos referem-se a duas ou mais sequências ou subsequências que têm pelo menos 85%, pelo menos 90%, pelo menos 95%, ou identidade ao resíduo aminoácido ou nucleotídeo mais alta, quando comparado e alinhado para correspondência máxima, como medido utilizando o seguinte método de comparação de sequência e/ou inspeção visual. Em certas modalidades, o “homólogo” existe só na região das sequências que é cerca de 50 resíduos no comprimento, pelo menos cerca de 100 resíduos, pelo menos 150 resíduos, ou além do comprimento completo das duas sequências a serem comparadas.

[032]Métodos de determinar a porcentagem de identidade são conhecidos na técnica. “Porcentagem (%) de identidade de sequência” com respeito a uma sequência sujeita específica, ou uma porção especificada da mesma, pode ser definida como a porcentagem de nucleotídeos ou aminoácidos na sequência derivada candidata idêntica com os nucleotídeos ou aminoácidos na sequência submetida (ou porção especificada da mesma), após alinhamento das sequências e introdução de espaços, se necessários para alcançar o máximo de porcentagem de identidade de sequência, como gerado pelo programa WU-BLAST-2.0a19 (Altschul et al, J. Mol. Biol. 215:403-410 (1997); <http://blast.wustl.edu/blast/README.htm>-1) com procura de parâmetros ajustados para valores ausentes. Os parâmetros HSP S e HSP S2 são valores dinâmicos e são estabelecidos pelo próprio programa dependendo da composição da sequência particular e composição da base de dados particular contra a qual a sequência de interesse está sendo procurada. Um “% de valor de identidade” é determinado pelo número de *matching* de nucleotídeos idênticos ou aminoácidos divididos pelo comprimento de sequência para a qual a porcentagem de sequência está sendo relatada.

II. Visão geral

[033]A presente revelação relaciona-se a um método de tratar hemoglobinúria paroxística noturna (“HPN”), mais especificamente para melhorar certos aspectos da qualidade de vida que são impedidos nos pacientes HPN, e outras doenças hemolíticas em mamíferos. Especificamente, os métodos de tratar doenças hemolíticas, que são descritos aqui, envolvem uso de compostos que se ligam a ou de outra forma bloqueiam a geração e/ou atividade de um ou mais componentes do complemento. Os presentes métodos têm sido encontrados prover resultados surpreendentes. Por exemplo, hemólise rapidamente pára sob administração do composto que se liga a ou de outra forma bloqueia a geração e/ou atividade de um ou mais componentes do complemento, como hemoglobinúria sendo significativamente reduzida após o tratamento. Também, pacientes hemolíticos podem ser feitos menos dependente de transfusões ou independentes de transfusões por períodos estendidos (doze meses ou mais), bem além dos 120 dias de ciclo de vida das células vermelhas do sangue. Em adição, contagem de célula vermelha sanguínea do tipo III pode ser aumentada dramaticamente no midst de outro mecanismo de lise de célula vermelha sanguínea (mediada por não complemento e/ou mediada por componentes precoces do complemento, por exemplo, C3b). Outro exemplo de um resultado surpreendente é que os sintomas resolvidos, indicando que os níveis de NO no soro foram aumentados o suficiente na presença de outros mecanismos de lise de células vermelhas sanguíneas. Esses e outros resultados relatados aqui são inesperados e não devem ser preditos a partir de tratamentos de doenças hemolíticas.

III. O Sistema Complemento

[034]O sistema complemento, inibidores úteis do complemento, e uso desses inibidores para tratar HPN e outros pacientes são mais completamente descritos no Pedido de Patente PCT PCT/US2005/003225 depositado em 3 de fevereiro de 2005 e publicado como Publicação Internacional de Número WO 2005/074607 A2 em 18 de agosto de 2005, o conteúdo do qual são aqui incorporados por referência

em sua totalidade.

[035]O sistema complemento atua em conjunção com outros sistemas imunológicos do corpo para defender contra a intrusão de patógenos celulares e virais. Existem pelo menos 25 proteínas do complemento, que são encontradas como uma complexa coleção de proteínas do plasma e co-fatores de membrana. As proteínas do plasma fazem cerca de 10% de globulinas no soro vertebrado. Componentes do complemento alcançam suas funções defensivas imunes por interagir em uma série de intricados mas precisas clivagens enzimáticas e eventos ligantes de membrana. A cascata de complemento resultante leva a produção de produtos com funções opsonicas, imunoregulatórias e líticas.

[036]O processo da cascata do complemento através da vida clássica ou da via alternativa. Essas vias dividem muitos componentes e, enquanto elas diferem em seus passos, elas convergem e dividem os mesmos componentes “terminais do complemento” (C5 a C9) responsáveis pela ativação e destruição das células alvo.

[037]A via clássica do complemento é tipicamente iniciada por reconhecimento por anticorpo e ligação a um sítio antigênico na célula alvo. A via alternativa é usualmente independente de anticorpo e pode ser iniciada por certas moléculas nas superfícies de patógenos. Ambas as vias convergem no ponto onde o componente do complemento C3 é clivado por uma protease ativa (que é diferente em cada via) para produzir C3a e C3b. Outras vias ativando ataque complemento podem atuar tardiamente na sequência de eventos levando a vários aspectos da função do complemento.

[038]C3 é uma anafilatoxina. C3b se liga a bactéria e outras células, bem como a certos vírus e complexos imunes, e liga aos mesmos para remoção da circulação. C3b neste papel é conhecido como opsonina. A função opsonica do C3b é considerada ser a mais importante ação anti-efetiva do sistema complemento. Pacientes com lesões genéticas que bloqueiam a função C3b são propensos a infecção

por uma ampla variedade de organismos patológicos, enquanto pacientes com lesões tardias na sequência da cascata do complemento, isto é, pacientes com lesões que bloqueiam funções C5, são encontrados ser mais propensos somente para infecção de *Neisseria*, e então somente de alguma forma mais propensos (Fearon, 1983).

[039]C3b também forma um complexo com outros componentes únicos para cada via para formar convertase C5 clássica ou alternativa, que cliva C5 em C5a e C5b. C3 é então considerada como a proteína central na sequência de reação do complemento desde que ele é essencial para ambas as vias, alternativa e clássica (Wurzner et al, 1991). Esta propriedade de C3b é regulada pela protease do soro Fator I, que age em C3b para produzir iC3b. Enquanto ainda funcional como opsonina, iC3b não pode formar uma convertase C5 ativa.

[040]C5 é uma beta globulina 190 kDa encontrada no soro normal a aproximadamente 75 µg/mL (0,4 µM). C5 é glicosilado, com cerca de 1,5-3 por cento de sua massa atribuída a carboidrato. C5 maduro é um heterodímero de um aminoácido 999 de cadeia alfa de 115kDa que é ligada por dissulfeto a um aminoácido 656 de cadeia beta de 75 kDa. C5 é sintetizado como uma proteína precursora de cadeia única de um gene de cópia única (Haviland et al, 1991). A sequência cDNA do transcrito deste gene prediz um precursor pró-C5 secretado de 1659 aminoácidos com uma sequência líder de 18 aminoácidos.

[041]O precursor pró-C5 é clivado após aminoácido 655 e 659, para produzir a cadeia beta como um fragmento amino terminal (resíduos aminoácidos +1 a 655) e a cadeia alfa como um fragmento carboxi-terminal (resíduos aminoácidos 660 a 1658), com quatro aminoácidos deletados entre os dois.

[042]C5a é clivado a partir da cadeia alfa de C5 por ou convertase C5 clássica ou alternativa como um fragmento amino-terminal compreendendo os primeiros 74 aminoácidos da cadeia alfa (isto é, resíduos aminoácidos 660-733). Aproximada-

mente 20 por cento da massa de 11 kDa de C5a é atribuída ao carboidrato. O sítio de clivagem por ação de convertase é em ou imediatamente adjacente ao resíduo aminoácido 733. Um composto que pode ligar a ou ser adjacente a este sítio de clivagem pode ter o potencial de bloquear o acesso a enzimas convertase C5 para o sítio de clivagem e assim atua como um inibidor do complemento.

[043]C5 pode também ser ativado por meios de outra atividade convertase C5. Digestão de tripsina limitada (Minta e Man, 1977; Wetsel e Kolb, 1982) e tratamento ácido (Yamamoto e Gewurz, 1978; Vogt et al, 1989) pode também clivar e produzir C5b ativo.

[044]C5a é outra anafilatoxina. C5b combina com C6, C7, e C8 para formar o complexo C5b-8 na superfície da célula alvo. Sob ligação de várias moléculas C9, o complexo de ataque a membrana (MAC, C5b-9, complexo complemento terminal – TCC) é formado. Quando números suficientes de MACs inseridos nas membranas celulares alvos, as aberturas que eles criam (poros MAC) medeiam lise osmótica rápida das células alvo. Concentrações inferiores não líticas de MACs podem produzir outros efeitos. Em particular, inserção de membrana de pequenos números de complexos C5b-9 em células endoteliais e plaquetas podem causar ativação celular deletéria. Em alguns casos podem preceder lise celular.

[045]Como mencionado acima, C3a e C5a são anafilotoxinas. Esses componentes do complemento ativados podem levar a degranulação de mastócitos, que liberam histamina e outros mediadores de inflamação, resultando em contração do músculo liso, aumentando permeabilidade vascular, ativação leucocitária, e outros fenômenos 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 do complemento.

[046]O efeito benéfico do mAb anti-C5 tem previamente sido relatado em vários modelos experimentais incluindo reperfusão (Vakeva et al, 1998), lúpus sistêmi-

cos eritematose (Wang et al, 1996) e artrite reumatóide (Wamg et al, 1995); bem como em triagens clínicas humanas (Kirschfink, 2001) de doença autoimune, ponte de safena cardiopulmonar e infarto agudo do miocárdio.

IV. Medidas de Qualidade de Vida

[047]Várias medidas existem para avaliar a qualidade de vida e o efeito das intervenções médicas na qualidade de vida, por exemplo, Exame do Estado Mental (MMSE), o Teste Rápido do estado Mental, a Questionários de Qualidade de Vida da Organização Européia para Pesquisa e Tratamento de Câncer (EORTC), os questionários FACIT e sub-escalas incluindo fadiga e anemia, a Escala Likert, e Escala Borg (Tombaugh et al, J. Am. Geriatr. Soc. 40:922, 1992; Cummings, JAMA, 269(18):2420, 1993; Crum et al, JAMA 269(18):2386, 1993; Folstein, et al, J. Psychiat. Res. 12:189, 1975; Kokmen, et al, Mayo Clin. Proc. 62:281, 1987; Tang-Wai et al, Arch. Neurol. 60:1777, 2003; Tamburini, Ann. Oncol. 12 (suplem. 3): S7, 2001; Webster et al, Health and Quality of Life Resultados, 1:79, 2003, www.hqlo.com/content/1/1/79; Grant. et al, Chest. 116:1208, 1999; e www.qolid.org). Quaisquer dessas medidas podem ser utilizadas para avaliar a mudança na qualidade de vida devido a administração de um composto que inibe o complemento ou inibe a formação do C5b-9.

[048]Em certas modalidades, melhora na qualidade de vida devido a administração de um composto que inibe o complemento ou inibe a formação de C5b-9 é medida pelo Sistema de Medida da Avaliação Funcional da Terapia de Doença Crônica (FACIT). Em certas modalidades, melhoram a qualidade de vida é medida por: a) escalas cheias; b) sub-escalas independentes; e c) indicador de sintoma.

[049]Em certas modalidades, melhora na qualidade de vida devido a administração de um composto que inibe o complemento ou inibe a formação de C5b-9 é medida por um Questionário de Qualidade de Vida da Organização Européia para Pesquisa e Tratamento de Câncer (EORTC). Em certas modalidades, os questioná-

rios EORTC é QLQ-C30.

[050]Em certas modalidades, melhora na qualidade de vida é medida por índice de expectativa de vida ajustada a saúde (HALE) como descrito em Wilkins, R. E Adams, OB, Am. J. Public. Health, 73:1073-1080 (1983). Expectativa de vida ajustada a saúde é uma média dos anos de vida ajustados a qualidade (QALY) para uma dada população e podem ser utilizados para avaliar o valor terapêutico de uma intervenção médica. Anos de vida ajustados a qualidade é um índice saudável que pesa cada ano de vida em uma escala de 1 a 0 (Weinstein MC e Stason WB, N Engl J Med, 296:716-721 (1977)). Saúde perfeita é classificado como 1, morte é classificado com 0, e deficiência e dor são classificados baseadas na severidade. QALY é determinado por multiplicação do número de anos para cada estado saudável.

[051]Em certas modalidades, melhora na qualidade de vida é medida pelos seguintes instrumentos: Anos de potencial de vida perdida, Expectativa de vida livre de deficiência, ano de vida ajustado a saúde, ano de vida ajustado a qualidade, anos saudáveis equivalentes, dias de saúde ganhos, dia livre de episódio, Q-TWiST, índice de Utilidade de Saúde, ou Anos de Vida Saudável. Essas medidas contam para ambas mudanças na mortalidade bem como na morbidade e deficiência. Quaisquer dessas medidas podem ser utilizadas para avaliar a mudança na qualidade de vida devido a administração de um composto que inibe ou inibe a formação de C5b-9.

[052]Em uma modalidade, os métodos revelados aumentam a qualidade de vida de um paciente por pelo menos um dia, pelo menos uma semana, pelo menos duas semanas, pelo menos três semanas, pelo menos um mês, pelo menos dois meses, pelo menos três meses, pelo menos 6 meses, pelo menos um ano, pelo menos 18 meses, pelo menos 2 anos, pelo menos 30 meses, ou pelo menos três anos, ou duração de tratamento.

[053]Em certas modalidades, os sintomas utilizados para medir a qualidade de vida são escalados por intensidade. Em certas modalidades, os sintomas são

escalados por frequência. Em certas modalidades, os sintomas são escalados para intensidade e frequência.

[054]Em certos aspectos, o pedido provê um método por prolongamento da expectativa de vida ajustada de um paciente compreendendo administração ao paciente um composto que inibe o complemento ou inibe a formação de C5b-9. As medidas acima contam para ambas as mudanças na mortalidade bem como mudanças na mobilidade e deficiência. Quaisquer dessas medidas podem ser utilizadas para avaliar a mudança na expectativa de vida ajustada a qualidade devido a administração de um composto que inibe o complemento ou inibe a formação de C5b-9.

[055]Em uma modalidade, os métodos revelados prolongam a expectativa de vida ajustada a saúde em um paciente por pelo menos um dia, pelo menos uma semana, pelo menos duas semanas, pelo menos três semanas, pelo menos um mês, pelo menos dois meses, pelo menos três meses, pelo menos 6 meses, pelo menos 1 ano, pelo menos 18 meses, pelo menos dois anos, pelo menos 30 meses, ou pelo menos três anos como medida pelo índice de expectativa de vida ajustada a saúde (HALE) como descrito em Wilkins, R. E Adams, OB, Am. J. Public. Health, 73:1073-1080 (1983). Expectativa de vida ajustada a saúde é uma média dos anos de vida ajustados a qualidade (QALY) para uma dada população e podem ser utilizados para avaliar o valor terapêutico de uma intervenção médica. Anos de vida ajustados a qualidade é um índice saudável que pesa cada ano de vida em uma escala de 1 a 0 (Weinstein et al, N Engl J Med, 296:716-721 (1977)). Saúde perfeita é classificado como 1, morte é classificado com 0, e deficiência e dor são classificado baseadas na severidade. QALY é determinado por multiplicação do número de anos para cada estado saudável.

V. Inibidores da Cascata do Complemento

[056]Em certas modalidades, qualquer composto que se ligue a ou de outra forma bloqueie a geração e/ou atividade de um ou mais componentes do comple-

mento podem ser utilizados nos presentes métodos. Em certas modalidades, um inibidor de complemento podem ser uma pequena molécula (acima de 6.000 Da em peso molecular), um ácido nucléico ou análogo de ácido nucléico, um peptídeo mimético, ou uma macromolécula que não é um ácido nucléico, um inibidor de serino protease, ou uma proteína. Esses agentes incluem, mas não são limitados a pequenas moléculas orgânicas, aptâmeros de RNA incluindo ARC187 (que é comercialmente disponível de Archemix Corp., Cambridge, Mass.), aptâmeros L-RNA, Spiegelmer, compostos anti-sendo, moléculas que podem ser utilizadas na interferência de RNA (RNAi) tais como RNA de dupla fita incluindo RNA de pequena interferência (siRNA), ácido nucléico fechado (LNA), inibidores do ácido nucléico peptídico (PNA).

[057]Em certas modalidades, um inibidor do complemento pode ser uma proteína ou fragmento de proteína. Proteínas são conhecidas por inibir a cascata do complemento, incluindo CD59, CD55, CD46 e outros inibidores de C8 e C9 (ver, por exemplo, Patente dos EUA 6.100.443). Proteínas conhecidas como receptores do complemento e que ligam ao complemento são também conhecidas (ver, Pedido de Patente Publicado PCT WO 92/10205 e Patente dos EUA 6.057.131). Uso de formas solúveis dos receptores do complemento, por exemplo, CR1 solúvel, pode inibir as consequências de ativação do complemento tais como explosão oxidativa de neutrófilo, injúria neural mediada por complemento, e produção C3a e C5a. Em certas modalidades, um inibidor do complemento pode ser ocorrência natural ou formas solúveis de compostos inibitórios do complemento tais como CR1, LEX-CR1, MCP, DAF, CD59, Fator H, fator de veneno de cobra, FUT-175, complestatina, e K76 COOH. Aqueles versados na técnica reconhecem o acima como alguns, mas não todos, dos métodos conhecidos de inibição do complemento e sua ativação.

[058]Em certas modalidades, um inibidor de complemento pode ser um anticorpo capaz de inibir o complemento, tal como um anticorpo que pode bloquear a formação de MAC. Por exemplo, um anticorpo inibidor do complemento pode incluir

um anticorpo que liga C5. Tais anticorpos anti-C5 podem diretamente interagir com C5 e/ou C5b, bem como inibir a formação de e/ou função fisiológica de C5b.

[059]Anticorpos anti-C5 adequados são conhecidos pelos versados na técnica. Anticorpos podem ser feitos para componentes individuais do complemento ativado, por exemplo, anticorpos para C7, C9 etc, (ver, por exemplo, Patente dos EUA 6.534.058; Pedido de Patente dos EUA publicado 2003/0129187; e Patente dos EUA 5.660.825). Patente dos EUA 6.355.245 ensina um anticorpo que liga a C5 e inibe a clivagem em C5a e C5b assim diminuindo a formação não somente de C5a mas também os componentes do complemento abaixo.

[060]A concentração e/ou atividade fisiológica de C5a e C5b em um corpo fluído podem ser medida por métodos bem conhecidos na técnica. Para C5a tais métodos incluem ensaios de quimiotaxia, RIAs ou ELISAs (ver, por exemplo, Ward e Zvaifler, J. Clin. Invest, 1971 Mar; 50(3):606-16; Wurzner et al, Complement Inflamm. 8:328-340, 1991). Para C5b, ensaios hemolíticos ou ensaios para C5b-9 solúvel como aqui discutido pode ser utilizado. Outros ensaios conhecidos na técnica podem também serem utilizados. Utilizando ensaios desses ou outros tipos adequados, anticorpos candidatos capazes de inibir o complemento tais como anticorpos anti-C5, agora conhecidos ou subseqüentemente identificados, podem ser selecionados a fim de 1) identificar compostos que são úteis na prática do pedido e 2) determinar os níveis de doses apropriadas de tais compostos.

[061]Um anticorpo capaz de inibir o complemento tal como anticorpo que se liga a C5 afetando C5b é preferivelmente utilizado nas concentrações provendo redução substancial (isto é, redução por pelo menos cerca de 25% como comparado aquele em ausência do anticorpo que se liga a C5) nos níveis de C5b presentes em pelo menos um fluído derivado de sangue do paciente seguindo ativação do complemento dentro do fluído. Tais concentrações podem ser convenientemente determinadas por medir a habilidade de lisar a célula (por exemplo, atividade hemolítica0

do complemento presente no fluído ou os níveis de C5b-9 solúveis presente no fluído. Consequentemente, uma concentração específica para um anticorpo que afeta C5b é uma que resulta em uma redução substancial (isto é, uma redução por pelo menos cerca de 25%) na habilidade de lisar células do presente complemento em pelo menos um dos fluídos derivados do sangue do paciente. Reduções da habilidade de lisar célula do presente complemento nos fluídos corporais do paciente podem ser medidas por métodos bem conhecidos na técnica tal como, por exemplo, por um ensaio hemolítico convencional tal como o ensaio de hemólise descrito por Kabat e Mayer (eds), "Experimental Immunochimistry, 2ª edição", 135-240, Springfield, IL, CC Thomas (1961), páginas 135-139, ou uma variação convencional deste ensaio tal como método de hemólise de eritrócito de galinha descrito abaixo.

[062]Anticorpos específicos capazes de inibir o complemento, tal como um anticorpo que se liga a C5, são relativamente específicos e não bloqueiam as funções de componentes precoces do complemento. Em particular, tais agentes específicos não impedirão substancialmente as funções de opsonização associadas com o componente do complemento C3b, cujas funções provêm um meio de limpar as partículas estranhas e substâncias do corpo.

[063]C3b é gerado por clivagem de C3, que é realizado por convertases C3 clássicas e/ou alternativas e resultam na geração de ambos, C3a e C3b. Assim, a fim de impedir as funções de opsonização associadas com C3b, anticorpos específicos capazes de inibir o complemento tal como um anticorpo que liga C5 não interfere substancialmente com a clivagem do componente C3 do complemento em um fluído corporal como paciente (por exemplo, soro), em C3a e C3b. Tal interferência com a clivagem de C3 pode ser detectada por medidas dos níveis no fluído corporal de C3a e/ou C3b, que são produzidos em proporções equimolares pelas ações de convertases C3. Tais medidas são informativas porque níveis C3a e C3b serão reduzidos (comparados a amostra comparada sem o anticorpo capaz de inibir o com-

plemento tal como um anticorpo que liga C5) se clivagem é interferida com um anticorpo capaz de inibir o complemento tal como um anticorpo que liga C5.

[064]Na prática, a medida quantitativa de tal clivagem é geralmente mais acurada quando realizada por medida dos níveis de C3a no fluído corporal ao invés de níveis de C3b no fluído corporal, desde que C3a permanece na fase fluída enquanto C3b é rapidamente retirado. Níveis de C3a em um fluído corporal pode ser medido por métodos bem conhecidos na técnica, tal como, por exemplo por uso de um kit C3a EIA comercialmente disponível, por exemplo, aquele vendido por Quidel Corporation, San Diego, Calif., de acordo com as especificações do fabricante. Anticorpos particularmente específicos capazes de inibir o complemento tal como um anticorpo que liga a C5 produz essencialmente nenhuma redução no fluído corpóreo de C3a seguindo ativação do complemento quando testado em tais ensaios.

[065]Certos anticorpos da revelação prevenirão a quebra de C5 para formar C5a e C5b, então prevenindo a geração da atividade anafilatóxica associada com C5a e prevenindo a reunião do complexo de ataque a membrana associado com C5b. Como discutido acima, em uma modalidade particular, esses anticorpos anti-C5 não impedirão a função de opsonização associada com a ação de C3b.

[066]Um método de inibir a atividade do complemento é usar um anticorpo monoclonal que se liga ao complemento C5 e inibe a clivagem. Este diminui a formação de ambos C5a e C5b enquanto ao mesmo tempo permite a formação de C3a e C3b que são benéficos ao recipiente. Tais anticorpos que são específicos ao complemento humano são conhecidos (Patente dos EUA 6.355.245). Esses anticorpos revelados na Patente dos EUA 6.35.245 incluem um anticorpo inteiro preferido (agora chamado eculizumab). Um anticorpo similar contra camundongo C5 é chamado BB5.1 (Frei et al, Mol. Cell Probes. 1:141-149 (1987)). Anticorpos para inibir a atividade do complemento não precisa ser anticorpos monoclonais. Eles podem ser, por exemplo, anticorpos policlonais. Eles podem adicionalmente serem fragmentos de

anticorpos. Eles podem adicionalmente serem fragmentos de anticorpos. Um fragmento de anticorpo inclui, mas não é limitado a um Fab, F(ab'), F(ab')₂, anticorpo de cadeia única, e Fv. Além disso, é bem conhecido pelos versados na técnica que anticorpos podem ser humanizados (Jones et al Nature 321:522-5 (1986)), quimerizados, ou deimunizados. Os anticorpos para serem usados na presente revelação podem ser qualquer desses. É preferível usar anticorpos humanizados.

[067]Em modalidades específicas, um agente terapêutico da revelação compreende um anticorpo ou fragmento de anticorpo. Anticorpos e fragmentos dos mesmos podem ser feitos por qualquer método convencional, tais como os métodos descritos aqui. Anticorpos são encontrados em múltiplas formas, por exemplo, IgA, IgG, IgM etc. Adicionalmente, anticorpos podem ser construídos em de inúmeras formas. Eles podem ser feitos como anticorpos de cadeia única (incluindo pequenos imunofarmacêuticos modulares ou SMIPs®), fragmentos Fab e F(ab')₂ etc. Anticorpos podem ser humanizados, quimerizados, deimunizados, ou completamente humanos. Numerosas publicações revelam muitos tipos de anticorpos e os métodos de construção de tais anticorpos. Por exemplo, ver Patente dos EUA Nos. 6.355.245; 6.180.370; 5.693.762; 6.407.213; 6.548.640; 5.565.332; 5.225.539; 6.103.889; e 5.260.203.

[068]Esta invenção provê fragmentos de anticorpos anti-C5, que podem compreender uma porção de um anticorpo intacto, preferivelmente a região variável ou ligadora de antígeno do anticorpo intacto. Exemplos de fragmentos de anticorpos incluem Fab, Fab', F(ab')₂, e fragmentos Fv; dianticorpos; anticorpos lineares (Zapata et al, Protein Eng, 8:1057-1062 (1995)); moléculas de anticorpos de cadeia única; e anticorpos multiespecíficos formados de fragmentos de anticorpo.

[069]Digestão de papaína de anticorpos produz dois fragmentos de ligação de antígeno idênticos, chamados fragmentos "Fab", cada com um sítio de ligação de antígeno único, e um fragmento "Fc" residual, cujo nome reflete sua habilidade de

cristalizar facilmente. Tratamento com pepsina de um anticorpo produz um fragmento $F(ab')_2$ que tem duas sítios de combinação de antígeno e é ainda capaz de antígeno de ligação cruzada.

[070]“Fv” refere-se aos fragmentos de anticorpo mínimo que contém um sítio de ligação e reconhecimento de antígeno. Esta região consiste de um dímero de um domínio de cadeia pesada e de um de cadeia leve variável leve em associação próxima e não covalente. É nesta configuração que os três CDRs de cada domínio variável interage para definir um sítio de ligação de antígeno na superfície do dímero VH-VL. Coletivamente, os seis CDRs conferem especificidade de ligação ao antígeno para o anticorpo. Entretanto, mesmo um domínio variável único (ou metade de um Fv compreendendo somente CDRs específicos para u antígeno) tem a habilidade de reconhecer e ligar antígeno, embora provavelmente em uma afinidade mais baixa que o sítio de ligação inteiro.

[071]O fragmento Fab também contém o domínio constante da cadeia leve e o primeiro domínio constante (CH1) da cadeia pesada. Fragmentos Fab' diferem dos fragmentos Fab pela adição de uns poucos resíduos no terminal carboxi do domínio CH1 da cadeia pesada incluindo uma ou mais cisteínas a partir de uma região de dobra. Fab'-SH é a designação aqui para Fab'em que o(s) resíduo(s) cisteína(s) dos domínios constantes bear do grupo tiol livre. Fragmento anticorpo $F(ab')_2$ originalmente foram produzidos como pares de fragmentos Fab' que têm cisteínas na dobra entre elas. Outros acoplamentos químicos de fragmentos anticorpos são também conhecidos.

[072]Fragmentos de anticorpo de “cadeia única Fv”ou “scFv” compreendem um polipeptídeo ligador entre os domínios V_H e V_L que permite o scFv para formar a estrutura desejada para a ligação de ligação. Para uma revisão de scFv ver Pluckthun em *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol 113, Rosenberg and Moore, eds. (Springer-Verlag: Nova Iorque, 1994), pp. 269-315.

[073]SMIPs são uma classe de peptídeo de cadeia única construída para incluir uma região alvo de ligação, domínio efetor (domínios CH2 e CH3). Ver, por exemplo, Publicação do Pedido de Patente dos EUA No. 20050238646. A região de ligação alvo pode ser derivado a partir da região variável ou CDRs de um anticorpo, por exemplo, um anticorpo que liga C5 do pedido. Alternativamente, a região ligante alvo é derivada a partir de uma proteína que liga C5.

[074]O termo “diabodies” refere-se a pequenos fragmentos de anticorpos com dois locais de ligação de antígenos, cujos fragmentos compreendem um domínio variável de cadeia pesada (VH) conectado a um domínio variável de cadeia leve (VL) na mesma cadeia polipeptídica (VH-VL). Por uso de um ligante que é muito curto para permitir paridade entre os domínios na mesma cadeia, os domínios são forçados a parear com os domínios complementares de outra cadeia e criar dois sítios ligadores de antígenos. Anticorpos bivalentes são descritos mais completamente em, por exemplo, EP 404.097; WO 93/11161; e Hollinger et al, Proc. Natl. Acad. Sci. EUA, 90:6444-5448 (1993).

[075]É bem conhecido que a ligação a uma molécula (ou um patógeno) de anticorpos com uma região Fc assiste no processamento e limpeza da molécula (ou patógeno). As porções Fc de anticorpos são reconhecidas por receptores especializados expressos por células efectoras imunes. As porções Fc de anticorpos IgG1 a IgG3 são reconhecidas por receptores Fc presentes na superfície de células fagocíticas tais como macrófagos e neutrófilos, que podem assim, ligar e engolfar as moléculas ou patógenos revestidos com anticorpos desses isotipos (C.A. Janeway et al, Immunobiology 5ª edição, página 147, Garland Publishing (Nova Iorque, 2001)).

[076]Esta revelação também provê anticorpos anti-C5 monoclonais. Um anticorpo monoclonal pode ser obtido a partir de uma população de anticorpos substancialmente homogêneos, isto é, os anticorpos individuais compreendendo a população são idênticos exceto por mutações de ocorrência natural possível que podem

estar presentes em menores quantidades. Anticorpos monoclonais são altamente específicos, sendo direcionados contra um sítio antigênico único. Além disso, em contraste as preparações de anticorpos convencionais (policlonais) que tipicamente incluem anticorpos diferentes contra um determinante único no antígeno. Em adição a sua especificidade, os anticorpos monoclonais são vantajosos pois são sempre sintetizados por cultura de hibridoma, não contaminados por outras imunoglobulinas. Anticorpos monoclonais podem também ser produzidos em células transfectadas, tais como células CHO e células NS0. O modificador “monoclonal” indica o caráter do anticorpo como sendo obtido a partir de uma população substancialmente homogênea de anticorpos e não requerem produção do anticorpo por método particular. Por exemplo, os anticorpos monoclonais para serem utilizados em acordo com a presente revelação podem ser feitos por método de hibridoma primeiro descrito por Kohler et al, *Nature* 256:495-497 (1975), ou podem ser feitos por métodos de DNA recombinantes (ver, por exemplo, Patente dos EUA Nos. 4.816.567 e 6.331.415). Os “anticorpos monoclonais” podem também serem isolados a partir das bibliotecas de fago de anticorpos utilizando as técnicas descritas em Clackson et al, *Nature* 352:624-628 (1991) e Marks et al, *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1991), por exemplo.

[077]Uma descrição da preparação de um camundongo anticorpo anti-humano-C5 monoclonal com características de ligação específicas é apresentada no pedido de Patente dos EUA No. 20050226870. Wurzner et al, *Complement Inflamm.* 5: 328-340 (1991), descreve a preparação de outros anticorpos monoclonais anti-humano-C5 de camundongo referidos como N19-8 e N20-9.

[078]Outros anticorpos especificamente contemplados são anticorpos “oligo-clonais”. Como aqui utilizado, o termo “anticorpos oligoclonais” refere-se a uma mistura pré-determinada de anticorpos monoclonais distintos. Ver, por exemplo, publicação PCT WO 95/20401; Patente dos EUA Nos. 5.789.208 e 6.335.163. Em uma modalidade, anticorpos oligoclonais consistindo de uma mistura pré-determinada de

anticorpos contra um ou mais e epítomos são gerados em uma célula única. Em outras modalidades, anticorpos oligoclonais compreendem uma pluralidade de cadeias pesadas capazes de parear com uma cadeia leve comum para gerar anticorpos com múltiplas especificidades (por exemplo, pedido PCT WO 04/009618). Anticorpos oligoclonais são particularmente úteis quando ele é desejado para múltiplos epítomos alvos em uma molécula alvo única (por exemplo, C5). Na visão dos ensaios e epítomos revelados aqui, aqueles versados na técnica podem gerar ou selecionar anticorpos ou misturas de anticorpos que são aplicáveis para um propósito tencionado e necessidade desejada.

[079]Em certas modalidades que incluem um anticorpo humanizado e/ou quimérico, um ou mais CDRs são derivados a partir de um anticorpo C5. Em uma modalidade específica todos os CDRs são derivados de um anticorpo anti-humano C5. Em outra modalidade específica, os CDRs a partir de mais que um anticorpo anti-humano C5 são misturados e compatíveis em um anticorpo quimérico. Por exemplo, um anticorpo quimérico pode compreender um CDR1 a partir da cadeia leve de um primeiro anticorpo anti-humano C5 combinado com CDR2 e CDR3 a partir da cadeia leve de um segundo anticorpo anti-humano C5, e os CDRs a partir da cadeia pesada pode ser derivado de um terceiro anticorpo C5 anti-humano. Ainda, as regiões de estrutura podem ser derivadas a partir de um dos anticorpos C5 anti-humanos, a partir de um ou mais anticorpos diferentes, tais como um anticorpo humano, ou a partir de um anticorpo humanizado. Anticorpos humanos ou humanizados são específicos para administração para pacientes humanos.

[080]Em certas modalidades, anticorpos de cadeia única, e anticorpos quiméricos, humanizados ou primatizados (enxerto-CDR), bem como anticorpos de cadeia única quimérico ou enxerto-CDR, compreendendo porções derivados a partir de espécies diferentes, são também compreendidos pela presente revelação como fragmentos de ligação de antígeno de um anticorpo. As várias porções desses anticor-

pos podem ser colocados junto quimicamente por técnicas convencionais, ou podem ser preparados, como uma proteína utilizando técnicas de engenharia genérica. Por exemplo, ácidos nucleicos codificando uma cadeia quimérica ou humanizada pode ser expressa para produzir uma proteína contígua. Ver, por exemplo, Patente Européia No. 0.120.694; WO 86/01533; Patente Européia No. 0.194.276 B1; Patente dos EUA 5.225.539; e Patente Européia No. 0.239.400 B1. Ver também, Newman et al, *Biotechnology* 10:1455-1460 (1992), com respeito a anticorpo primatizado. Ver, por exemplo, Ladner et al, Patente dos EUA 4.946.778; e Bird et al, *Science* 242:423-426 (1988), com respeito a anticorpos de cadeia único.

[081]Em adição, fragmentos funcionais de anticorpos, incluindo fragmentos de anticorpos quiméricos, humanizados ou de cadeia única, podem também ser produzidos. Fragmentos funcionais dos anticorpos sujeitos retêm pelo menos uma função de ligação e/ou função de modulação do anticorpo de comprimento inteiro a partir de que eles são derivados. Fragmentos funcionais preferidos retêm uma função de ligação de antígeno de um anticorpo de comprimento inteiro correspondente (tal como, por exemplo, habilidade de anticorpo que liga C5 a ligar C5).

[082]Métodos gerais para a imunização de animais (neste caso com C5 e/ou C5b etc), isolamento de células de produção de anticorpo, fusão de tais células com células imortais (por exemplo, células de mieloma) para gerar hibridomas secretar anticorpos monoclonais, selecionando de sobrenadantes de hibridoma para reatividade de anticorpos monoclonais secretados com antígeno desejado (neste caso o imunógeno ou uma molécula contendo o imunógeno), a preparação de quantidades de tais anticorpos em sobrenadantes de hibridoma ou fluídos ascites, e para a purificação e estoque de tais anticorpos monoclonais, podem ser encontrados em numerosas publicações. Esses incluem: Coligan, et al, eds. Current Protocols In Immunology, John Wiley & Sons, Nova Iorque, 1992; Harlow e Lane, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Nova Iorque, 1988; Liddell e Cryer, A Prac-

tical Guide To Monoclonal Antibodies, John Wiley & Sons, Chichester, West Sussex, Inglaterra, 1991; Montz et al, Cellular Immunol. 127:337-351 (1990); Wurzner et al, Complement Inflamm. 6:328-340 (1991); e Mollnes et al, Scand J. Immunol. 28:307-312 (1988).

VI Métodos de Tratamento

[083]Métodos de aplicação podem ser utilizados para tratar sintomas hemoglobinúria paroxística noturna. Métodos do pedido podem ser utilizados para tratar sintomas associados anemia. Tratamento de hemoglobunúria paroxística noturna e/ou anemia pode ser administrado por meios padrões. Tratamentos do pedido podem ser utilizados em combinação com outros tratamentos do pedido ou tratamentos conhecidos para hemoglobunúria paroxística noturna e/ou anemia. Tratamentos do pedido podem ser co-administrados com outros tratamentos que tratam sintomas de hemoglobinúria paroxística noturna e/ou anemia.

VII Formulações Farmacêuticas e Uses

[084]Métodos de administração de pequenas moléculas, proteínas, e ácidos nucléicos são bem conhecidos pelos versados na técnica. Métodos de administração de anticorpos são bem conhecidos pelo versados na técnica. Para alcançar a inibição desejada, os anticorpos podem ser administrados em uma variedade de formas de dosagem única. A dose irá variar de acordo com o anticorpo particular. Por exemplo, anticorpos diferentes podem ter diferentes massas e/ou afinidades, e então requererem diferentes níveis de dosagem. Anticorpos preparados como fragmentos de Fab também irão requerer doses diferentes que as imunoglobulinas intactas equivalentes, como eles são de massa consideravelmente menor que imunoglobulinas intactas, e então requerem menores dosagens para alcançar os mesmos níveis molares no sangue dos pacientes. A dose também variará dependendo da maneira de administração, os sintomas particulares do paciente sendo tratado, a saúde geral, condição, tamanho, e idade do paciente, e o julgamento do médico prescrito. Níveis

de dosagens para pacientes humanos são geralmente entre cerca de 1 mg por kg e cerca de 100 mg por kg por paciente por tratamento, e preferivelmente entre cerca de 5 mg por kg e cerca de 50 mg por kg por paciente por tratamento. Em termos de concentrações plasmáticas, as concentrações de anticorpo são preferivelmente na variação de cerca de 25 µg/mL a cerca de 500 µg/mL. Entretanto, quantidades maiores podem ser requeridas para casos extremos e quantidades menores podem ser suficientes para casos suaves.

[085]Em certas modalidades, a composição farmacêutica está na forma de dosagem única. Em certas modalidades, a forma de dosagem única é uma forma de dosagem única de 300 mg. Em certas modalidades, a composição farmacêutica é liofilizada. Em certas modalidades, a composição farmacêutica é uma solução estéril. Em certas modalidades, a composição farmacêutica é uma formulação livre de conservante. Em certas modalidades, a composição farmacêutica compreende uma formulação de uso único de 300 mg de 30 mL de uma solução livre de conservante, estéril de 10 mg/mL. Em certas modalidades o anticorpo é administrado de acordo com o seguinte protocolo: 600 mg através de 25 a 45 minutos de infusão IV a cada 7 ± 2 dias para as primeiras 4 semanas, seguido por 900 mg para a quinta dose 7 ± 2 dias após, então 900 mg a cada 14 ± 2 dias daí para frente. Anticorpo é administrado através da infusão IV por 25 a 45 minutos.

[086]A administração de anticorpos anti-C5 geralmente será feita por uma via intravascular, por exemplo, infusão pela via intravenosa por injeção. Outras vias de administração podem ser utilizadas se desejado, mas uma via intravenosa será a mais preferível. Formulações adequadas para injeção são encontradas em Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Filadélfia, Pa, 17^a ed. (1985). Tais formulações devem ser estéreis e não pirogênicas, e geralmente incluirão um veículo farmacêuticamente efetivo, tal como salina, salina tamponada (por exemplo, fosfato tamponado), solução de Hanks, solução de Ringer, dextrose/salina,

soluções de glicose, e semelhantes. As formulações podem conter substâncias auxiliares farmacêuticamente aceitáveis como requerido, tal como, agentes ajustadores de tonicidade, agentes umidificantes, agentes bactericidas, conservantes, estabilizantes e semelhantes. Em certas modalidades, inibidores do complemento tal como eculizumab podem ser administrados através de infusão IV e diluído para a concentração final de 5 mg/mL antes da administração.

[087]Administração de anticorpos capazes de inibir o complemento tal como um anticorpo que liga C5 será geralmente feito por via parenteral, tipicamente via de injeção tal como injeção intra-articular ou intravascular (por exemplo, infusão intravenosa) ou injeção intramuscular. Outras vias de administração, por exemplo, oral (p.o.), podem ser utilizadas se desejada e praticável para o anticorpo particular capaz de inibir o complemento a ser administrado. Anticorpos capazes de inibir o complemento tal como um anticorpo que liga C5 pode também ser administrado em uma variedade de formas de dosagem unitária e suas dosagens também variarão com o tamanho, potência, e meia vida in vivo do anticorpo particular capaz de inibir o complemento sendo administrado. Doses de anticorpos capazes de inibir o complemento tal como anticorpo que liga V5 também variará dependendo da maneira de administração, os sintomas particulares do paciente sendo tratados, a saúde geral, condição, tamanho, e idade do paciente, e o julgamento do médico prescrito.

[088]Em certas modalidades, um típico tratamento terapêutico inclui uma série de doses, que usualmente serão administradas concorrentemente com o monitoramento de pontos clínicos com os níveis de dosagem ajustados como necessidade para alcançar o resultado clínico desejado. Em certas modalidades, o tratamento é administrado em múltiplas dosagens por pelo menos uma semana. Em certas modalidades, o tratamento é administrado em múltiplas dosagens por pelo menos um mês. Em certas modalidades, o tratamento é administrado em múltiplas dosagens por pelo menos um ano. Em certas modalidades, o tratamento é administrado em

múltiplas dosagens pela vida restante do paciente.

[089]A frequência de administração pode também ser ajustada de acordo com vários parâmetros. Esses incluem a resposta clínica, a meia vida do plasma da terapêutica da revelação, e os níveis do anticorpo no fluído do corpo, tais como, sangue, plasma, soro, ou fluído sinovial. Para guiar o ajustamento da frequência de administração, níveis da terapêutica da revelação no fluido corpóreo pode ser monitorado durante o curso do tratamento.

[090]Em certas modalidades, a frequência de administração pode ser ajustada de acordo com um ensaio medindo a habilidade de lise celular do complemento presente em um mais dos fluídos corporais dos pacientes. A habilidade de lise celular pode ser medida como porcentagem de hemólise nos ensaios hemolíticos dos tipos descritos aqui. Uma redução de 10% ou 25% ou 50% na habilidade de lise celular do presente complemento em um fluído corporal após o tratamento com o anticorpo capaz de inibir o complemento utilizado na prática do pedido significa que a porcentagem de hemólise após tratamento é 90, 75, ou 50 por cento, respectivamente, da porcentagem de hemólise antes do tratamento.

[091]Para o tratamento de doenças hemolíticas tal como HPN por administração sistêmica de um anticorpo capaz de inibir o complemento tal como um anticorpo que liga C5 (como oposto ao local de administração), administração de uma grande dose inicial é específica, isto é, uma dose inicial única suficiente para produzir uma redução substancial, e mais preferivelmente pelo menos cerca de 50% de redução, na atividade hemolítica do soro do paciente. Tal uma grande dose inicial é preferivelmente seguida por administração regularmente repetida de doses estreitas como necessário para manter reduções substanciais do título hemolítico sérico. Em outra modalidade, a dose inicial é dada por ambas, vias local e sistêmica, seguida por administração sistêmica repetida de doses estreitas como descrito acima.

[092]Formulações particularmente úteis para agentes terapêuticos baseados

em anticorpo são também descritas na Publicação de Patente dos EUA Nos. 20030202872, 20040091490 e 20050158316. Em certas modalidades, as formulações líquidas para a aplicação são substancialmente livres de tensoativos e/ou sais. Em outra modalidade específica, as formulações têm um pH variando de cerca de 5,0 a cerca de 7,0. Em ainda outra modalidade específica, as formulações líquidas compreendem histidina em uma concentração variando de cerca de 1 mM a cerca de 100 mM. Em ainda outra modalidade específica, as formulações líquidas compreendem histidina em uma concentração variando de 1 mM a 100 mM. É também contemplado que as formulações líquidas podem ainda compreender um ou mais excipientes como um sacarídeo, um aminoácido (por exemplo, arginina, lisina e metionina) e um poliol. Descrições adicionais e métodos de preparação e análise de formulações líquidas podem ser encontradas, por exemplo, nas publicações PCT WO 03/106644, WO 04/066957, e WO 04/091658.

[093]Agentes umidificantes, emulsificantes e lubrificantes, tais como lauril sulfato de sódio e estearato de magnésio, bem como agentes colorantes, agentes de liberação, agentes de revestimento, adoçantes, flavorizantes e agentes perfumantes, conservantes e antioxidantes podem também estar presentes nas composições farmacêuticas do pedido.

[094]Em certas modalidades, formulações dos anticorpos do paciente são formulações livres de pirogênio que são substancialmente livres de endotoxinas e/ou relacionadas a substâncias pirogênicas. Endotoxinas incluem toxinas que são confinadas dentro dos microorganismos e são liberadas quando os microorganismos são quebrados ou mortos. Substâncias pirogênicas também incluem substâncias termolábeis induzindo febre (glicoproteínas) a partir da membrana externa de bactéria e outros microorganismos. Ambas essas substâncias podem causar febre, hipotensão e choque se administrado a humanos. Devido ao potencial efeito nocivo, é vantajoso remover mesmo que baixas quantidades de endotoxinas a partir de solu-

ções de fármaco farmacêuticos administrados intravenosamente. A Administração de Comida & Medicamento (“FDA”) tem acertado acima de 5 unidades de endotoxina (UE) por dose por quilograma de peso corporal em um período de uma hora única para aplicações de fármaco intraveno (The United States Pharmacopeial Convention, Pharmacopeial Forum 26 (1):223 (2000)). Quando proteínas terapêuticas são administradas em quantidades de várias centenas ou milhares de miligramas por quilograma de peso corporal, como pode ser o caso com anticorpos monoclonais, elas são vantajosas para remover mesmo quantidades marcadas de endotoxina.

[095]Formulações de anticorpos ao paciente incluem aquelas adequadas para administração oral, dietária, tópica, parenteral (por exemplo, injeção intravenosa, intraarterial, intramuscular, subcutânea), oftalmológica (por exemplo, tópica ou intraocular), inalação (por exemplo, intrabronquial, intranasal ou inalação oral, gotas intranasal), retal, e/ou administração intravaginal. Outros métodos adequados de administração podem também incluir dispositivos recarregáveis ou biodegradáveis e dispositivos poliméricos de liberação controlada. Stentes, em particular, podem ser revestidos com um polímero de liberação controlada misturado com um agente da aplicação. As composições farmacêuticas desta revelação podem também ser administradas como parte de uma terapia combinatorial com outros agentes (ou na mesma formulação ou em uma formulação separada).

[096]A quantidade da formulação que será terapeuticamente efetiva pode ser determinada por técnicas clínicas padrões. Em adição, ensaios in vitro podem ser opcionalmente empregados para ajudar identificar variações de dose ótima. A dose precisa a ser empregada na formulação também dependerá da via de administração, e a seriedade da doença ou distúrbio, e deve ser decidida de acordo com o julgamento do praticante e cada circunstância do paciente. Doses efetivas podem ser extrapoladas a partir de curvas dose-resposta a partir de sistemas de teste in vitro ou modelo animal. A dose das composições a serem administradas podem ser

determinadas pelo versado na técnica sem indevida experimentação em conjunção com estudos de dose-resposta padrões. Circunstâncias relevantes a serem consideradas em tomar essas determinações incluem a condição ou condições a serem tratadas, a escolha da composição a ser administrada, a idade, peso, e resposta do paciente individual, e a severidade dos sintomas do paciente. Por exemplo, o peso corporal do paciente atual pode ser utilizado para calcular a dose das formulações em mililitros (mL) a ser administrada. Não deve haver nenhum ajuste abaixo para o peso “ideal”. Em tal uma situação, uma dose apropriada pode ser calculada pela seguinte fórmula: $\text{Dose (mL)} = [\text{peso do paciente (kg)} \times \text{nível de dose (mg/kg)}] / \text{concentração do fármaco (mg/mL)}$.

[097]Para alcançar os resultados de tratamento desejados, anticorpos anti-C5 podem ser administrados em uma variedade de formas de dosagem unitária. A dose variará de acordo com o anticorpo particular. Por exemplo, anticorpos diferentes podem ter massas diferentes e/ou afinidades, e então requerem diferentes níveis de dosagem. Anticorpos preparados como fragmentos Fab' ou anticorpos de cadeia única também requerem doses diferentes que as imunoglobulinas nativas equivalentes, como eles são de massa consideravelmente menor que imunoglobulinas nativas, e então requer, menores dosagens para alcançar os mesmos níveis molares no sangue do paciente.

[098]Outros terapêuticos da revelação podem também ser administrados em uma variedade de formas de dose unitária e suas dosagens serão também variadas com o tamanho, potências, e meia vida in vivo do terapêutico particular sendo administrado.

[099]Doses de terapêuticos da revelação também variarão dependendo da maneira de administração, os sintomas particulares sendo tratado, a saúde geral, condição, tamanho m, e idade do paciente, e o julgamento do médico prescrito.

[0100]As formulações do pedido podem ser distribuídas como artigos de fa-

bricação compreendendo material embalado e um agente farmacêutico que compreende o anticorpo capaz de inibir completamente e um veículo farmaceuticamente aceitável como apropriado para o modo de administração. O material embalado pode incluir uma etiqueta que indica que a formulação é para uso no tratamento de doenças hemolíticas tal como HPN. Embora anticorpos são referidos, especialmente anticorpos anti-C5 que já tenha sido mostrado para ser seguro e efeito pela diminuição do acúmulo de componentes do complemento finais em pessoa, o uso de outros inibidores do complemento é também concentrado e revelado. As formulações farmacêuticas e usos da revelação podem ser combinadas com quaisquer números do complemento conhecidos ou tratamentos de doenças hemolíticas conhecidas na técnica.

[0101]Em certos aspectos, o pedido provê kits compreendendo uma composição farmacêutica da aplicação. Em algumas modalidades, o kit ainda compreende pelo menos um componente de um sistema estéril fechado. Componentes do sistema estéril fechado incluem, mas não são limitados a agulhas, seringas, seringas baseadas em catéter, dispositivos de injeção baseados em agulha, dispositivos de injeção sem agulha, filtros, tubos, válvulas e cânulas. Em uma modalidade relatada, o kit compreende componentes para remoção de um conservante a partir da composição. Tais componentes incluem filtros, seringas, frascos, recipientes, tubos etc.

EXEMPLIFICAÇÃO

Seleção do Paciente

[0102]O teste TRIUMPH consistiu de um período de 2 semanas de seleção, um período de observação de até 3 meses de duração, e um período de tratamento de 26 semanas.

[0103]Durante o período de seleção, pacientes foram avaliados com respeito a critérios de inclusão e exclusão. Homens e mulheres, 18 anos ou mais velhos, diagnosticados como tendo HPN com uma população de eritrócito tipo III de $\geq 10\%$, e

que tivessem recebido pelo menos 4 transfusões nos 12 meses anteriores foram elegíveis. Administração concomitante de eritropoietina, imunossuppressores, corticosteróides, coumadina, heparina de baixo peso molecular, suplementos de ferro, e ácido fólico foram não razões para exclusão, providas as doses foram estáveis antes da primeira visita e através da duração do estudo. Porque a frequência aumentada de infecções de neisseria em indivíduos geneticamente deficientes nas proteínas do complemento terminal, todos os pacientes foram vacinados contra *Neisseria meningitides*. Pacientes evitaram concepção. O protocolo foi aprovado por um Quadro de Revisão Investigacional a cada sítio clínico e consento informado escrito foi obtido de todos os pacientes inscritos.

[0104] Pacientes transfundidos com uma média de nível de hemoglobina pré-transfusão > 10,5 g/dL pelos 12 meses prévios, e aqueles que mostraram evidência de ter uma resposta imune suprimida, deficiência de complemento, ou infecção bacteriana ativa, incluindo qualquer história de doença meningocócica, foram excluídos do estudo. Pacientes foram também não elegíveis se eles tiverem previamente recebido um transplante de medula óssea ou se eles tiverem participado de outra seleção ou recebido outro fármaco investigacional dentro de 30 dias da primeira visita. Uma transfusão individualizada algorítma foi calculada para cada paciente baseada na sua história de transfusão 12 meses antes; o algoritmo escrito documentou o número de unidades transfundidas de bolsas de células sanguíneas vermelha (BCSV) para dado valor de hemoglobina e serviu como um guia determinado prospectivamente para períodos de transfusão durante a observação e tratamento.

[0105] Cada paciente considerado elegível entrou em período de observação por 13 semanas a fim de confirmar sua dependência de transfusão de BCSV. Pelo menos uma transfusão – nomeada a transfusão “qualificante”- durante o período de 13 semanas em um valor de hemoglobina em ou abaixo de 9 g/dL com sintomas, ou em ou 7 g/dL com ou sem sintomas, de acordo com o algoritmo de transfusão indi-

cado para cada paciente, foi um requerimento para proceder a aleatoriedade. O valor de hemoglobina em cada transfusão qualidicante do indivíduo foi administrada, foi definida como o “fixado” da hemoglobina para o indivíduo para o propósito da eficácia primária variável. Uma contagem de plaqueta $\geq 100.000/\text{mL}$ e um nível de LDH $\geq 1,5$ vezes do limite superior da variação normal foram também requeridos ou na seleção ou durante o período de observação para elegibilidade.

Desenho do Estudo

[0106] Pacientes foram aleatoriamente determinados em uma base de um a um para receber ou placebo ou eculizumab (Soliris®, Alexion Pharmaceuticals, Inc.) dentro de 10 dias da transfusão qualificante. Estudo da medicação foi dosado em uma forma cega como segue: 600 mg de eculizumab para pacientes aleatoriamente determinados para fármaco ativo, ou placebo para aqueles pacientes aleatoriamente determinados para o placebo, respectivamente via infusão IV cada 7 ± 1 dias para 4 doses; seguido por 900 mg de eculizumab, ou placebo, respectivamente, através da infusão IV 7 ± 1 dias após; seguido por uma manutenção de 900 mg de eculizumab, ou placebo, respectivamente, via infusão IV cada 14 ± 2 dias por um total de 26 semanas de tratamento.

Medidas da Eficácia Clínica

[0107] Existiram dois pontos finais co-primários no estudo: (1) estabilização dos níveis de hemoglobina, definido como um valor de hemoglobina mantido acima da hemoglobina individual fixada em ausência de transfusões pelo total período de 26 semanas de tratamento., e (2) redução nas unidades do(s) BSCV transfundidas durante as 26 semanas de tratamento do estudo. O ativador para transfusão durante o período de estudo permaneceu inalterado para cada paciente, com comparado com seu cuidado antes de entrar no estudo: pacientes receberam transfusões de sangue quando estes tiveram sintomas resultantes de anemia e alcançaram sua individualidade, pré-determinada pré-determinada “set point”. Pontos finais secundá-

rios pré-especificados incluíram rejeição a instrução, hemólise como pela área da curva de LDH para a linha de base a 26 semanas, e QoL muda como medido pela linha base a 26 semanas utilizando o instrumento de Avaliação Funcional de Terapia de Doença Crônica – Fatigue (FACIT-Fatigue). 13 Análises exploratórias pré-especificada incluiu avaliação do instrumento EORTC QLQ-C30, 14 a mudança no LDH da linha de base através da semana 26, e trombose. Outras medidas pré-especificadas incluíram farmacocinética, farmacodinâmica e imunogenicidade de eculizumab. Tempo para a primeira transfusão durante as 26 semanas de fase de tratamento e a proporção de células do sangue HPN tipo III foram também avaliados.

Avaliações de Segurança

[0108]Eventos adversos emergidos no tratamento, testes clínicos (por exemplo, análises químicas do soro, e contagem sanguínea completa), dados de eletrocardiograma, e sinais vitais foram avaliados. Eventos adversos foram definidos utilizando os termos preferidos MedDRA e tabulados como taxas de incidência por grupo de tratamento.

Análise Estatística

[0109]Para pontos co-primários, análises foram feitas de acordo com a intenção de tratar usando os dados de todos os pacientes que foram distribuídos aleatoriamente e receberam o fármaco de estudo; estabilização dos níveis de hemoglobina foi analisado utilizando o teste exato de Fishers e unidades de BCSV transfundidas foram analisadas com teste de soma de postos de Wilcoxon. Para comparação do efeito do efeito do tratamento em evitar transfusão, o teste exato de Fisher foi utilizado na incidência e o teste de postos logaritmo foi utilizado para o tempo para a primeira transfusão. Para a área de LDH sob a curva o teste de soma de postos de Wilcoxon foi utilizado.

[0110]Medida da qualidade de vida de fadiga foi avaliada utilizando os guias

de índices para o instrumento FACIT-Fatigue. 15 Avaliação de medidas de qualidade de vida baseada no instrumento EORTC-QLQ-C30 foi conduzido de acordo com os guias de índices apropriados. 16 As mudanças dos índices FACIT-Fatigue e EORTC QLQ-C30 a partir da linha de base através de 26 semanas foram analisados utilizando um modelo misturado, com linha de base como covariável, tratamento e tempo de efeitos fixados, e paciente como um efeito aleatório. Mudanças nos níveis de LDH e eritrócitos tipo III em HON a partir da linha base através de 26 semanas foram analisadas utilizando os mesmos modelos misturados. Testes de dois lados foram utilizados para todas as análises. Os eventos adversos e checagem de segurança de longo termo foram tabulados separadamente e comparados entre tratamentos utilizando o teste exato de Fisher. Um valor de $p \leq 0,05$ foi considerado ser estatisticamente significativo.

RESULTADOS

Características dos Pacientes

[0111]Um total de 115 pacientes HPN foram selecionados. Seis pacientes não encontraram critério de inclusão/exclusão durante o período de seleção. Vinte e um outros pacientes não receberam a transfusão de qualificação e foram não aleatorizados na fase de tratamento. Um paciente que não encontrou critério de inclusão foi inadvertidamente aleatorizado, mas não recebeu medicamento de estudo. Então, 87 pacientes HPN hemolíticos (35 homens e 52 mulheres) foram inscritos e aleatorizados para receber ou eculizumab (N=43) ou placebo (N=44), excedendo o alvo original de 75 pacientes aleatórios.

[0112]Características dos pacientes foram similares nos grupos tratados com eculizumab- e placebo: média de idade, 41 (variando de 20-85) e 35 (variando de 18-78) anos; duração média de HPN, 4,2 (variando de 0,8 a 29,7) e 9,2 (variando de 0,4 a 38,3) anos; pacientes com história de anemia aplástica, 4 em 11; história de síndrome mielodisplástica, 1 e 0; e história de trombose, 9 (16 eventos) e 8 (11

eventos). Uso estável de medicamentos concomitantes na linha de base nos grupos tratados com eculizumab- e placebo incluíram os seguintes: eritropoietina, 3 pacientes e 0 pacientes; ciclosporina, 1 e 1; anticoagulantes (coumarinas ou heparinas) 21 e 11; e estereóides (glicocorticóides ou esteróides androgênicos), 12 e 12, respectivamente.

[0113] Dos 87 pacientes aleatórios, 85 completaram a triagem. Dois pacientes que não completaram a triagem foram aleatorizados para o braço eculizumab: um paciente descontinuou devido a inconveniência de viagem para o sítio de estudo e o segundo paciente se ficou grávida. Dez pacientes no grupo de tratamento placebo descontinuaram as infusões, em todos os casos devido a percepção da ausência de eficácia, mas eles permaneceram no estudo para propósitos de monitoramento.

Farmacocinéticas/Farmacodinâmicas

[0114] Em 42 dos 43 pacientes tratados com eculizumab os níveis de fármaco durante o período de manutenção (900 mg cada 2 semanas $\pm$ 2 dias) foram suficientes para completamente bloquear a atividade hemolítica do soro (média através dos valores na semana 26 de 101,8 $\mu\text{g/mL}$). Um único paciente não sustentou os níveis de eculizumab através da terapêutica e demonstrou uma quebra no bloqueio do complemento durante os últimos poucos dias de cada intervalo de dose. Essas quebras foram clinicamente manejadas e rapidamente resolvidas seguindo a próxima dose.

Variáveis da Eficácia Hemolítica

[0115] O impacto da inibição do complemento terminal com eculizumab na hemólise intravascular crônica em pacientes HPN foi demonstrado neste estudo por uma diminuição imediata (uma semana) e sustentada nos níveis médios de LDH (Figura 1A). A média sob a área da curva de LDH durante o período do estudo de 26 semanas foi reduzido a 85,8% nos pacientes tratados com eculizumab relativos ao placebo ($P < 0,001$). O nível médio de LDH diminuiu de $2199,7 \pm 157,6$ IU/L na linha

de base para $327,3 \pm 67,6$ IU/L por 26 semanas nos pacientes tratados com eculizumab enquanto os níveis nos pacientes tratados com placebo permaneceram consistentemente elevados com valores de $2259,0 \pm 158,5$ IU/L na linha de base e $2418,9 \pm 140,3$ IU/L nas 26 semanas ($P < 0,001$, para eculizumab versus placebo). Uma segunda medida bioquímica de hemólise, aminotransferase aspartato sérica (AST), também mostrou um melhoramento significativamente estatístico seguindo tratamento com eculizumab versus placebo (dados não mostrados). Níveis de haptoglobina foram estatisticamente significativamente aumentados em pacientes tratados com eculizumab como comparado ao placebo, mas níveis médios de haptoglobina foram ainda abaixo dos níveis normais em pacientes tratados com eculizumab (dados não mostrados).

[0116]A Figura 1A mostra o grau de hemólise intravascular em pacientes HPN, demonstrado por meio de níveis de desidrogenase láctica (LDH) ($\pm$ erro padrão) a partir da linha base (estudo semana 0) a semana 26 para ambas as populações de pacientes, tratados com eculizumab e placebo. Seleção ocorreu 3 meses antes do estudo na semana 0. O limite superior da variação normal (103-223 IU/L) para LDH é indicado por uma linha pontilhada. LDH foi reduzido para um nível médio somente acima do limite abaixo do normal na semana 26 para pacientes tratados eculizumab; 15 dos 41 pacientes que completaram o estudo demonstraram os níveis de LDH dentro da variação normal. Todos os pacientes tratados com placebo permaneceram pelo menos 5 vezes acima do limite superior do normal na semana 26. O valor de P é baseado em uma análise modelo misturado a partir da linha base através da semana 26. Figura 1B mostra a proporção média ($\pm$ erro padrão) dos eritrócitos do tipo III de HPN avaliados para pacientes tratados com placebo e eculizumab. A seleção de visita ocorreu 3 meses antes do estudo na semana 0. O valor de P é baseado em uma análise do modelo misturado a partir da linha de base através da semana 26.

[0117] Uma conclusão para a redução na hemólise intravascular durante o tratamento com eculizumab foi um aumento observado na população de eritrócito do tipo III HPN (Figura 1B). As proporções médias dos eritrócitos do tipo III a partir de $28,1 \pm 2,0\%$ na linha de base para $56,9 \pm 3,6\%$ para a semana 26 para pacientes tratados com eculizumab enquanto proporções no grupo placebo permanecera, constantes com valores médios de $35,7 \pm 2,8\%$ antes do tratamento a $35,5 \pm 2,8\%$ nas 26 semanas ($P < 0,001$, para eculizumab versus placebo). Por contraste, as proporções de granulócitos do tipo III HPN e monócitos não mudaram significativamente entre os grupos de tratamento durante o período de tratamento e foram maiores que 90% na semana 26.

EFICÁCIA CLÍNICA

Pontos co-primários

[0118] A eficácia co-primária dos pontos finais na triagem TRIUMPH foram estabilização de níveis de hemoglobina e redução de unidades de BCSV transfundidas. No fim do período de tratamento, 48,8% dos pacientes tratados com eculizumab tiveram níveis mantidos de hemoglobina acima do ponto final pré-especificado (valor médio acetado de 7,7 g/dL para ambos os grupos de tratamento) na ausência de transfusões, embora a estabilização de hemoglobina não ocorra em qualquer dos pacientes no grupo placebo ($P < 0,001$; Tabela 1). Pela semana 26, a média de unidades de BCSV transfundidas por paciente foi 0 no grupo eculizumab e 10,0 no grupo placebo e grupos placebo, respectivamente. No período de 6 meses antes do estudo, a média de unidades de BCSV transfundidas por paciente foi 9,0 no grupo eculizumab e 8,5 nos pacientes placebo enquanto a média de unidades de BCSV transfundidas foi $9,6 \pm 0,6$ e $9,7 \pm 0,7$, respectivamente. Níveis de hemoglobina médios foram similares entre os grupos de tratamento na linha de base ($10,0 \pm 1,8$ g/dL nos pacientes tratados com eculizumab e $9,7 \pm 1,8$ g/dL nos pacientes tratados com placebo) e não mudou substancialmente pela semana 26 ($10,1 \pm 2,5$ g/dL $8,9 \pm 2,2$

g/dL em grupos eculizumab e placebo, respectivamente).

[0119]O tempo médio da primeira transfusão não foi alcançado durante o período de estudo nos pacientes tratados com eculizumab (ele foi maior que 26 semanas) enquanto o grupo placebo alcançou o tempo médio para a primeira transfusão em somente 4 semanas ($P < 0,001$; Figura 2). Evite de transfusão foi alcançado em 51,2% e 0% dos grupos de eculizumab e placebo, respectivamente ($P < 0,001$). No fim do período de tratamento de 26 semanas, as unidades totais de BSCV transfundidas foram 131 em pacientes eculizumab versus 482 no grupo placebo (Tabela 1). Por contraste, no período anterior de 6 meses a ao estudo, unidades de BSCV transfundidas nos grupos de eculizumab e placebo foram 413 e 417, respectivamente.

Tabela 1

Estabilização de Níveis de Hemoglobina e Redução nos Requerimentos de Transfusão durante o Tratamento com Eculizumab

	PRÉ-TRATAMENTO HISTÓRIA*		PERÍODO DE TRATAMENTO		
	Placebo	Eculizumab	Placebo	Eculizumab	vr de P
†Estabilização dos Níveis de Hemoglobina na ausência de transfusões (porcentagem de pacientes)	NA	NA	0	48,8	<0,001‡
†Unidades Transfundidas por Paciente					
Média	8,5	9,0	10	0	<0,001§
Média $\pm$ EP	9,7 $\pm$ 0,7	9,6 $\pm$ 0,6	11,0 $\pm$ 0,83	3,0 $\pm$ 0,67	
Unidades Totais Transfundidas por Grupo	417	413	482	131	

*Doze meses de história de dados de transfusão normalizados para 6 meses

†Pontos co-primários

‡Base no teste exato de Fisher de 2 lados

§Baseado no teste de soma de postos de Wilcoxon

NA, não aplicável

Melhoramentos nas medidas de qualidade de vida

[0120]Avaliações de qualidade de vida em pacientes HPN durante o tratamento com eculizumab foram feitas utilizando dois instrumentos diferentes; FACIT-Fatigue e o EORTC QLQ-C30. Pacientes tratados com eculizumab mostraram uma média de aumento (melhora) no índice FACIT-Fatigue de $6,4 \pm 1,2$ pontos da linha de base para 26 semanas enquanto o índice médio nos pacientes placebos diminuiu por $4,0 \pm 1,7$ pontos, uma diferença total entre os grupos de tratamento de 10,4 pontos (Figura 3). Modelo de análise misturado de covariância demonstrou uma significância de diferença estatística entre os grupos do tratamento ($P < 0,001$).

[0121]Para o instrumento EORTC, melhoras foram observadas com tratamento com eculizumab em cada sub-escala. Melhoramentos estatisticamente significantes com grupos eculizumab comparados com tratados com placebo foram observados nas seguintes sub-escalas de qualidade de vida (tabela 2): estado de saúde global ($P < 0,001$), funcionamento físico ($P < 0,001$), funcionamento emocional ($P = 0,008$), funcionamento cognitivo ($P = 0,002$), funcionamento role ($P < 0,001$), funcionamento social ($P = 0,003$), fadiga ($P < 0,001$), dor ($P = 0,002$), dispnéia ($P < 0,001$), perda de apetite ($P < 0,001$), e insônia ($P = 0,014$). Os melhoramentos com tratamento com eculizumab nas outras escalas incluindo náusea e vômito, diarreia, constipação e dificuldades financeiras, não alcançaram significância estatística.

Tabela 2

Efeito do Tratamento de Eculizumab na Qualidade de vida Avaliada por Instrumento EORTC QLQ_C30

Mudança Média na Linha de Base para a semana 26*				
	Placebo	Eculizumab	Diferença Absoluta	Valor de P†

Estado de saúde global	-8,5	10,9	19,4	<0,001
Funcional				
Desempenho	-6,9	17,9	24,8	<0,001
Social	2,0	16,7	14,6	=0,003
Cognitivo	-6,1	7,9	14,0	=0,002
Fídico	-3,5	9,4	13,0	<0,001
Emocional	-3,7	7,5	11,2	=0,008
Sintomas / Itens Únicos				
Fadiga	10,0	-16,9	27,0	<0,001
Dor	5,3	-12,3	17,6	=0,002
Dispneia	8,9	-7,9	16,9	<0,001
Perda de apetite	3,3	-10,3	13,6	<0,001
Insônia	4,9	-7,9	12,8	=0,014
Financeira	0,0	-10,3	10,3	=0,186
Dificuldades				
Constipação	0,0	-6,3	6,3	=0,199
Náusea/vômito	2,8	-0,4	3,2	=0,056
Diarréia	5,7	4,8	0,9	=0,147

*Mudança positiva indica uma melhora no estado de saúde global e escalas funcionais e uma mudança negativa indica uma melhora no sintoma e escalas de item único.

†Baseado em um modelo de análise-de-covariância misturada com visita como um efeito fixado, paciente como um efeito aleatório e linha de base como um covariante.

Relação entre qualidade de vida FACIT-Fatigue e hemólise intravascular

[0122]A fim de determinar se existe um tratamento independente da relação entre o instrumento de qualidade de vida FACIT-Fatigue e hemólise intravascular, uma análise foi feita em que a média do nível de LDH (através do período de estudo de 26 semanas) para cada paciente TRIUMPH foi analisado como uma função da

mudança média respectiva do paciente no índice FACIT-Fatigue a partir da linha de base (através do período de estudo de 26 semanas) (ver Tabela 3). Para esta análise, níveis médios de LDH foram divididos em 4 grupos que incluíram: níveis normais, 1-2 vezes de limite superior de normal (ULN), 2-10 vezes o limite superior do normal, e maior que 10 vezes o limite superior do normal. A análise demonstrou que pacientes que mantiveram os níveis de LDH normais através do estudo experimentaram melhoramentos significantes na fadiga quando comparados aos pacientes que tiveram níveis aumentadamente maiores de LDH através no estudo ($p=0,0048$). Esses dados estabeleceram uma ligação clara entre a hemólise intravascular aumentada como medida por níveis de KDH e qualidade diminuída de vida como medida pelo instrumento de qualidade de vida FACIT-Fatigue.

Tabela 3

Relação entre qualidade de vida FACIT-Fatigue e Hemólise Intravascular

		Mudança de FACIT a partir da Linha de Base		
Grupo de Tratamento	Categoria de LDH	<4	>=4	Valor de P
Combinado	Normal	4 (30,77%)	9 (69,23%)	.0048
	1 – 2 X ULN	16 (61,54%)	10 (38,46%)	
	2 – 10 X ULN	18 (72,00%)	7 (28,00%)	
	> 10 X ULN	16 (80,00%)	4 (20,00%)	

Segurança

[0123]Não existiram mortes no estudo. Eventos adversos sérios (EASs) foram reportados por 13 pacientes, dos quais 4 ocorreram no grupo tratado com eculizumab e 9 foram no grupo tratado com placebo (ver Tabela 4). Todos os pacientes recuperaram-se sem sequelas.

[0124]O mais comum EAS relatado pelos pacientes tratados com eculizumab foram dor de cabeça, nasofaringite, dor na coluna, e infecção do trato respiratório.

rio superior. Dor de cabeça e dor na coluna ocorreram mais comumente no grupo de tratamento eculizumab comparado com o grupo placebo. Entretanto, o aumento das dores de cabeça foi limitado às primeiras 2 semanas de terapia e foi de leve a moderada. Não existem diferenças estatisticamente significantes nas taxas de incidentes entre os grupos de tratamento para qualquer dos EASs relatados.

[0125]Um episódio de trombose (Budd-Chiari) ocorreu em um paciente tratado com placebo. Não existiram tromboses nos pacientes tratados com eculizumab.

[0126]Somente um paciente mostrou um nível detectável de anticorpos anti-eculizumab no grupo tratado com eculizumab; esta resposta foi fraca (não foi titulada), ocorrida somente um ponto de tempo e não resultou em um rompimento do bloqueio do complemento.

Tabela 4

Relato dos Eventos Adversos

EVENTOS ADVERSOS SÉRIOS*	Pacientes Placebo n (porcentagem)	Pacientes Eculizumab n (porcentagem)
Total	9 (20,5)	4 (9,3)
Tratamento eculizumab emergente		
Exacerbação de HPN	3 (6,8)	1 (2,3)
Cólica Renal	0	1 (2,3)
Prolapso do disco lombar-sacral	0	1 (2,3)
Bacteremia alfa estreptococal	0	1 (2,3)
Linha central de Infecção e UTI	1 (2,3)	0 (0)
Infecção do Trato Respiratório Superior	1 (2,3)	0 (0)
Provável Infecção Viral	1 (2,3)	0 (0)
Neutropenia	1 (2,3)	0 (0)
Celulite/foliculite/neutropenia	1 (2,3)	0 (0)
Anemia e pirexia	1 (2,3)	0 (0)
EVENTOS ADVERSOS MAIS FREQUENTES†*		

Dor de Cabeça§	12 (27,3)	19‡ (44,2)
Nasofaringite	8 (18,2)	10 (23,3)
Infecção do Trato Respiratório Superior	10 (22,7)	6 (14)
Dor de Coluna	4 (9,1)	8 (18,6)
Náusea	5 (11,4)	7 (16,3)
Tosse	4 (9,1)	5 (11,6)
Diarréia	5 (11,4)	4 (9,3)
Artralgia	5 (11,4)	3 (7,0)
Dor abdominal	5 (11,4)	2 (4,7)
Vertigem	5 (11,4)	2 (4,7)
Vômito	5 (11,4)	2 (4,7)
Fadiga	1 (2,3)	5 (11,6)
Infecção Viral	5 (11,4)	1 (2,3)

*Por termos preferidos

†Ocorrência em 10% ou mais dos pacientes

‡Dezesseis de 19 pacientes experimentaram dor de cabeça dentro de 48 horas de infusão

§Seguindo as primeiras 2 semanas de dose, 20,9% de pacientes tratados com eculizumab e 22,7% com placebo experimentaram dor de cabeça.

DISCUSSÃO

[0127] Hemólise intravascular crônica com períodos de exacerbação aguda são as manifestações de HPN, frequentemente resultando em anemia, a necessidade de transfusões de níveis sustentam de hemoglobina, e deterioração na qualidade de vida. No estudo principal TRIUMPH de fase III, nós examinamos o efeito da inibição do complemento terminal com aculizumab em níveis de hemoglobina e requerimentos de transfusão em pacientes com HPN. Quarenta e nove por cento dos pacientes tratados com eculizumab pelo período de 6 meses demonstraram estabilização da hemoglobina em ausência de transfusões comparados a nenhum paciente no

braço placebo da triagem. Mais de 50% de pacientes tratados com eculizumab foram independentes de transfusão durante todo o estudo comparado com nenhum do braço placebo, e a média geral de taxa de transfusões foi reduzida por 73%. Além disso, mesmo nos pacientes que não alcançaram independência de transfusão, tratamento de eculizumab foi associado com uma redução de 44% na taxa de transfusão (dados não mostrados).

[0128]Lactato deidrogenase lactato, um marcador bioquímico de hemólise em HON,9 foi imediatamente e consistentemente diminuída em todos os pacientes tratados com eculizumab, enquanto os pacientes no grupo placebo continuaram a hemolisar com níveis de LDH excedendo 5 vezes o limite superior da variação normal em todos os pacientes no final do estudo. Níveis de LDH foram reduzidos na variação normal em aproximadamente um terço de pacientes tratados com eculizumab, enquanto o restante estabilizado em um nível somente acima do limite superior do normal sugerindo baixo nível residual de hemólise em alguns pacientes. Níveis de haptoglobina, um marcador mais sensível da presença da célula livre de hemoglobina na circulação, foram indetectáveis na maioria dos pacientes. Baixo nível de hemólise em um subgrupo de pacientes tratados com eculizumab é possivelmente devido a uma diminuição inerente na sobrevivência dessas células ou mediadas por C3b, limpeza extravascular de eritrócitos HPN através do sistema reticuloendotelial.

[0129]Antes do tratamento com eculizumab, níveis de hemoglobina nos estudos dos pacientes foram artificialmente mantido por transfusão frequente. Dessa forma, estabilização dos níveis de hemoglobina com a parada concomitante de ou redução nas transfusões representa uma rede aumentada nos níveis de hemoglobina endógena. Nossos dados sugerem que resolução de hemólise com resultados eculizumab em um novo estado steady do nível de hemoglobina determinado por um balanço entre a extensão da disfunção da medula óssea de base, o número de eritrócitos HPN que são preservados por terapias de eculizumab e o novo nível (se

qualquer) da transfusão requerente.

[0130] Pacientes com HPN geralmente experiênciam marcadamente qualidade de vida impedida caracterizada por fadiga, anemia, trombose, e hipertensão pulmonar bem como distonia do músculo liso incluindo dor abdominal, disfagia, e disfunção erétil.^{9,10,18} Esses sintomas têm sido atribuídos a ambos, hemólise excessiva intravascular e scavenging abaixo de óxido nítrico por hemoglobina livre de célula no plasma. A redução de hemólise intravascular nos pacientes tratados com eculizumab no corrente estudo foi associado com melhoramentos significantes no componente fadiga de qualidade de vida relativo aos pacientes tratados com placebo como avaliado via instrumento FACIT-Fatigue. Além disso, terapia de eculizumab foi associada com um aumento mediano de 6,4 pontos sob valores da linha de base estabelecidos antes do tratamento. Tem sido previamente demonstrado que um aumento de 3 ou mais pontos a partir da linha de base representa uma importante diferença clínica nesta qualidade de vida do instrumento. 19 Pacientes que recebem eculizumab também experimentaram um melhoramento significativo na maioria dos domínios do EORTC QLQ-30 relativo ao grupo tratado com placebo incluindo estado de saúde global, funcionamento físico, funcionamento emocional, funcionamento cognitivo, funcionamento funcional, funcionamento social, fadiga, dor, dispnéia, perda de apetite, e insônia. Melhoramento no componente fadiga do EORTC QLQ-30 provê suporte para o melhoramento demonstrado no instrumento FACIT-Fatigue durante a terapia com eculizumab. Importaneamente, esses melhoramentos na qualidade de vida nos pacientes tratados com eculizumab ocorreu a despeito dos níveis similares de hemoglobina de eritrócito em dois grupos de tratamentos, ainda suportando a contribuição de hemólise por si, como oposto na anemia, na mediação da pobre qualidade de vida em pacientes HPM. Avaliação clínica de dos sintomas relacionados a qualidade de vida adicionais de HPN, incluindo dor abdominal, disfagia, e disfunção erétil, têm também sido relatado aumentar durante a terapia com eculizumab.

[0131]Eculizumab do seguro e bem tolerado. Não existiram mortes no estudo e somente um único evento trombótico que ocorreu em um paciente placebo em um sítio (a veia hepática) que é típica de trombose em HPN. A breve duração relativa deste estudo não foi suficiente para endereçar relevantes assuntos de uma possível proteção de trombose por inibição do complemento terminal com eculizumab.

[0132]Eventos adversos foram geralmente leves com dor de cabeça ocorrendo em uma frequência aumentada nos pacientes tratados com eculizumab: entretanto, esta frequência aumentada não persiste seguindo as primeiras duas doses da terapia. Existiram 4 EASs no grupo de tratamento eculizumab e 9 EASs no grupo placebo. Não existiram evidências de risco de infecção aumentado em pacientes tratados com eculizumab durante o período de estudo. Um paciente tratado com eculizumab mostrou um baixo nível de anticorpos anti-eculizumab em um ponto de tempo durante o estudo que não persistiu e não resultou em uma quebra do bloqueio do complemento. Não existiram EASs associados com saída eculizumab nos pacientes tratados com eculizumab 2 que não completaram a triagem. Avaliações de segurança adicionais, bem como medidas de eficácia, estão sendo examinadas em uma triagem de segurança de eculizumab de fase III, de marcação aberta, em um multi-centro em processo (SHEPHERD) em aproximadamente 95 pacientes com HPN.

[0133]Resultados a partir do estudo global, controlado por placebo, de corrente aleatória, mostraram que a inibição do complemento terminal com eculizumab parece ser uma terapia segura e efetiva para pacientes com um raro distúrbio HPN. Tratamento com eculizumab reduziu hemólise intravascular, e níveis de hemoglobina estabilizados a despeito de uma redução de transfusões, ao ponto onde a maioria dos pacientes HPN foram feitos independentes de transfusão. Melhoramentos substanciais e clinicamente significantes na fadiga e outros parâmetros chaves na qualidade de vida foram também demonstrados. Todos os 85 pacientes que completaram

o estudo elegeram receber eculizumab em um estudo de extensão de marcação aberta e todos correntemente permanecem no fármaco. Os resultados do estudo TRIUMPH indicam que a inibição do complemento terminal com eculizumab de forma segura e efetiva dirige uma importante consequência do defeito genético de base nas células tronco hematopoiéticas HPN por prover uma substituição terapêutica para a deficiência inibitória do complemento terminal.

[0134]A presente invenção provê entre outras coisas tratamento com um inibidor de complemento. Muitas variações da invenção se tornarão aparentes aos versados na técnica sob revisão desta especificação. O objetivo completo da invenção deve ser determinado por referência às reivindicações, junto com seu completo objetivo de equivalentes, e a especificação, junto com tais variações.

[0135]Todas as publicações e patentes mencionadas aqui, incluindo aqueles itens listados abaixo, são aqui incorporados por referência em sua totalidade como se cada publicação individual ou patente foi especificamente e individualmente indicada para ser aqui incorporada por referência. No caso de conflito, o presente pedido incluindo quaisquer definições aqui, controlará.

[0136]1. Takeda, J, Miyata, T., Kawagoe, K et al, Deficiency of the GPI anchor caused by a somatic mutation of the PIG-A gene in paroxymal nocturnal hemoglobinuria. Cell, 1993; 73:03-11.

[0137]2. Bessler M, Mason PJ, Hillmen P et al, Paroxymal nocturnal haemoglobinuria (HPN) is caused by somatic mutations in the PIG-A gene. EMBO J 1994; 13:110-7.

[0138]3. Yamashina M, Ueda E, Kinoshita T et al, Inherited complete deficiency of 20-kilodalton homologous restriction factor (CD59) as a cause of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. N Engl J Med 1990; 323:1184-9.

[0139]4. Motoyama N, Okada N, Yamashina M, Okada H. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria due to hereditary nucleotide deletion in the HRF20 (CD59)

gene. Eur J Immunol 1992; 22:2669-73.

[0140]5. Holguin MH, Fredrick LR, Bernshaw NJ, Wilcox LA, Parker CJ. Isolation and characterization of a membrane protein from normal human erythrocytes that inhibits reactive lysis of the erythrocytes of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. J Clin Invest 1989; 84:7-17.

[0141]6. Rollins SA, Sims PJ. The complement-inhibitory activity of CD59 resides in its capacity to block incorporation of C9 into membrane C5b-9. J Immunol 1990; 144:3478-83.

[0142]7. Sims PJ, Rollins SA, Wiedmer T. Regulatory control of complement on blood platelets. Modulation of platelet procoagulant responses by a membrane inhibitor of the C5b-9 complex. J. Biol. Chem 1989;264:19228-35.

[0143]8. Wiedmer T, Hall SE, Ortel TI, Kane WH, Rosse WF, Sims PJ. Complement-induced vesiculation and exposure of membrane prothrombinase sites in platelets of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood 1993; 82:119206.

[0144]9. Rother RP, Bell L, Hillmen P, Gladwin MT. The Clinical sequelae of intravascular hemolysis and extravascular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease. JAMA 2005; 293:1653-62.

[0145]10. Rosse WF. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Hoffman. Nova Iorque: Churchill Livingstone, 2000: 331-342.

[0146]11. Thomas TC, Rollins SA, Rother RP et al. Inhibition of complement activity by humanized antibody that binds C5 and single-chain Fv. Mol. Immunol 1996; 33:1389-401.

[0147]12. Hillmen O, Hall C, Marsh JC et al. Effect of eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. N Engl J Med 2004; 350:552-9.

[0148]13. Yellen SB, Cella DF, Webster K, Blensowski C, Kaplan E. Measuring fatigue and other anemia-related symptoms with the Functional Assessment of

Cancer Therapy (FACT) measurement system. J Pain Symptom Manage 1997;13:63-74.

[0149]14. Aaronson NK, Ahmedzai S, Bergman B et al. The European Organization for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30: a quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. J Natl Cancer Inst 1993; 85:365-76.

[0150]15. Cella D. Manual of the Functional Assessment of Chronic Illness Therapy (FACIT) Measurement System. Version 4. Center on Resultados Reasearch and Education (CORE) Evanston Northwestern Healthcare and Northwestern University, 1997.

[0151]16. Fayers PM, Aaronson NK, Bjordal K et al. The EORTC QLQ-C30 Scoring Manual (3rd Edition). Brussels: European Organisation for Research and Treatment of Cancer, 2001.

[0152]17. Jasinski M, Pantazopoulos O, Rother RP et al. A novel mechanism of complement-independent clearance of red cells deficient in glycosil phosphatidyl-inositol-linked proteins. Blood 2004; 103:2827-34.

[0153]18. Hill A, Wang X, Sapsford RJ et al. Nitric Oxide Consumption and Pulmonary Hypertension in Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. Blood 106 [11].2005 RefType: Abstract

[0154]19. Cella D, Eton DT, Lai JS, Peterman AH, Merkel DE. Combining anchor and distribution-based methods to derive minimal clinically important differences on the Functional Assessment of Cancer Therapy (FACT) anemia and fatigue scales. J Pain Symptom Manage 2002;24:547-61.

[0155]20. Hill A, Rother RP, Hillmen P. Improvement in the symptoms of smooth muscle dystonia during eculizumab therapy in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Haematologica 2005; 90:ECR40.

[0156]21. Parker C, Omine M, Richards S et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood 2005; 106:3699-709.

22. Hill A, Wang X, Sapsford RJ, et al. Nitric Oxide Consumption and Pulmonary Hypertension in Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. Blood, 2005, 106: A1046.

[0157] SEQUÊNCIAS

SEQ ID NO: 1: V_H do Eculizumab

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFSNIYWIQWVRQAPGQGLEWMG
EILPGSGSTEYTENFKDRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARYF
FGSSPNWYFDVWGQGTLVTVSSA

SEQ ID NO: 2: Cadeia pesada do Eculizumab

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFSNIYWIQWVRQAPGQGLEWMG
EILPGSGSTEYTENFKDRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARYF
FGSSPNWYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGT
QTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS
DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK

SEQ ID NO: 3: V_L do Eculizumab

MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCIDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENI
YGALNWKYQQKPGKAPKLLIYGATNLDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQNVLTPLTFGQGKVEIKRT

SEQ ID NO: 4: Cadeia leve do Eculizumab

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYGALNWKYQQKPGKAPKLLIYGAT
NLDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQNVLTPLTFGQGK

VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL
QSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP
VTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 5: CDRH1 do Eculizumab

NYWIQ

SEQ ID NO: 6: CDRH2 do Eculizumab

EILPGSGSTEYTENFKD

SEQ ID NO: 7: CDRH3 do Eculizumab

YFFGSSPNWYFDV

SEQ ID NO: 8: CDRL1 do Eculizumab

GASENIYGALN

SEQ ID NO: 9: CDRL2 do Eculizumab

GATNLAD

SEQ ID NO: 10: CDRL3 do Eculizumab

QNVLNTPLT

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de um anticorpo que se liga a C5 **CARACTERIZADO** pelo fato de que é para a preparação de uma composição farmacêutica para tratar um paciente que sofre de hemoglobinúria paroxística noturna (HPN), em que o anticorpo compreende uma cadeia pesada consistindo na SEQ ID NO: 2 e uma cadeia leve consistindo na SEQ ID NO: 4.

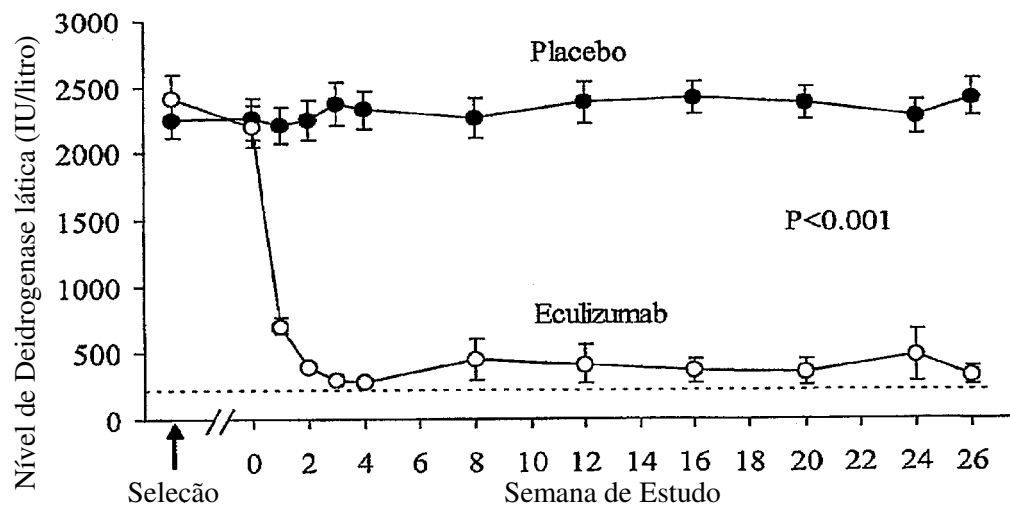
2. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a composição farmacêutica é formulada para ser administrada por infusão intravenosa.

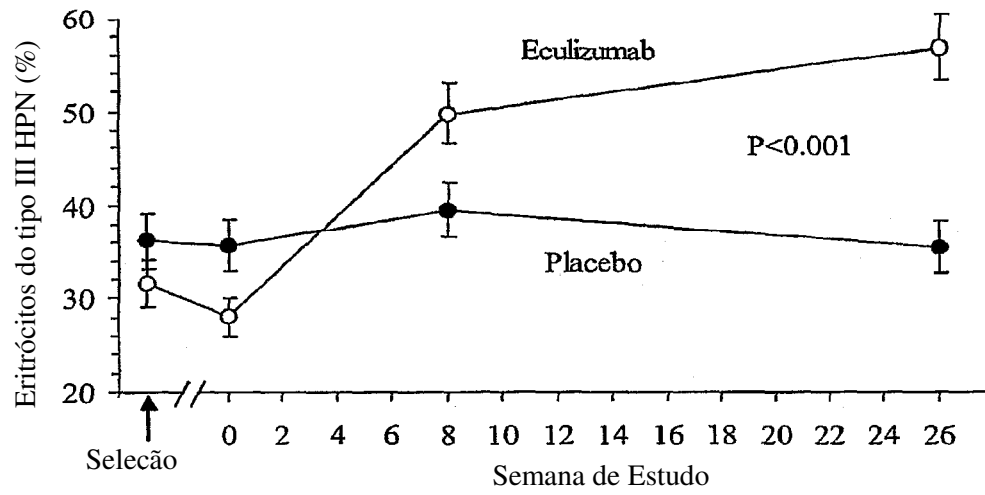
3. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a composição farmacêutica está em uma forma única de dosagem unitária.

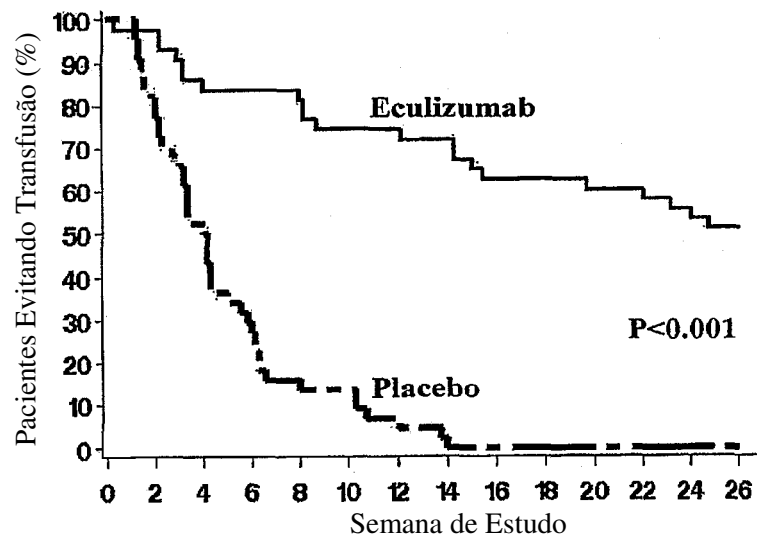
4. Uso, de acordo com a reivindicação 3, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a forma única de dosagem unitária é uma forma única de dosagem unitária de 300 mg.

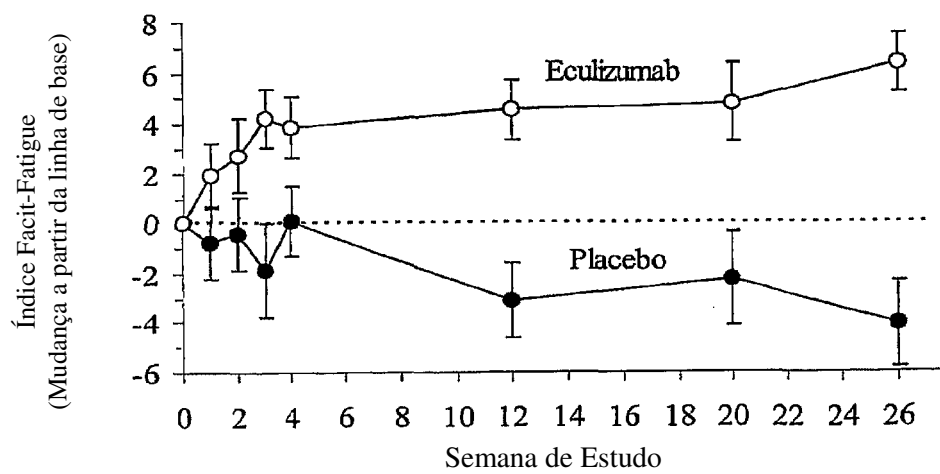
5. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a composição farmacêutica compreende uma formulação de 300 mg de uso único de 30 ml de uma solução estéril, livre de conservantes, de 10 mg/ml.

6. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o paciente é anêmico.

**FIGURA 1A**

**FIGURA 1B**

**FIGURA 2**

**FIGURA 3**