



## Ecuzumab: farmacología clínica

Francesc Jané

Departamento de Farmacología, Terapéutica y Toxicología, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España

Artículo aceptado para su publicación el 19 de octubre de 2011

La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) se describió por primera vez en 1882 como un cuadro sintomático que presentaba súbitamente hemoglobina en orina después del sueño<sup>1</sup>. Más de un siglo después, sabemos que la HPN no es paroxística ni se relaciona con el sueño, sino que es un trastorno adquirido de las células madre hematopoyéticas que promueve la aparición de hemólisis crónica<sup>2,3</sup>. En efecto, se trata de una mutación adquirida en un gen localizado en el brazo corto del cromosoma X que codifica para la molécula glucosil-fosfatidil-inositol (GPI), que constituye el sistema de anclaje de diversas proteínas en la membrana celular de todas las células sanguíneas afectadas<sup>4,5</sup>. Entre las proteínas que se unen a la membrana mediante la GPI, se encuentran factores reguladores del complemento, como el CD55 y el CD59. La ausencia de CD55 y CD59 en la superficie de los eritrocitos de los individuos afectados de HPN promueve su destrucción por hemólisis debido a la incapacidad del sistema para frenar la activación del complemento<sup>4</sup>.

El sistema del complemento está formado por más de 20 proteínas séricas que interactúan en una cascada enzimática generando respuestas inmunorreguladoras. Se pueden activar mediante tres vías distintas: la clásica (iniciada por complejos antígeno-anticuerpo), la alternativa (iniciada por membranas bacterianas y lipopolisacáridos) y la vía de la lectina<sup>6</sup>. Las tres vías convergen en el factor C5 que, tras experimentar un proceso de activación enzimática, acaba escindiéndose en los fragmentos C5a y C5b.

C5a es una potente anafilotoxina con capacidad de inducir la liberación de distintos factores proinflamatorios, mientras que C5b es el primer componente del complemento terminal al que se unen sucesivamente C6, C7, C8 y C9 para acabar conformando el complejo de ataque de membrana. La destrucción y la pérdida de eritrocitos fuera del sistema normal de recambio (hemólisis intravascular) facilitan la instauración de anemia y promueven la presencia de una sintomatología inespecífica pero característica de los pacientes con HPN: fatiga, dolor abdominal, disfagia, disfunción eréctil, disnea, hemoglobinuria y trombosis.

Hasta hace poco tiempo se carecía de un tratamiento específico que evitase la hemólisis eritrocitaria y las medidas terapéuticas disponibles se limitaban a promover el mejor soporte posible (inmunoterapia, analgésicos y transfusiones). El único tratamiento disponible con finalidad curativa estaba representado por el trasplante de médula ósea, que incluso en disponibilidad de un donante compatible aporta una supervivencia global del 50-60%<sup>7,8</sup>. La elevada afinidad de ecuzumab por la proteína C5 del complemento le permite unirse a

ésta y evitar así su rotura en C5a y C5b, de manera que se evita la generación del complejo C5b-9, complejo terminal de membrana, causante, en última instancia, de la lisis celular de los hematíes (fig. 1)<sup>9</sup>.

Ecuzumab es el primer fármaco aprobado para el tratamiento de la HPN específicamente. Recibió una aprobación acelerada por parte de la Food and Drug Administration en marzo del año 2007 y en junio del mismo año fue aprobado por la European Medicines Agency; en este último caso es el primer fármaco que recibe aprobación por procedimiento abreviado en la historia de este organismo; en ambos casos, se registra con el estatus de fármaco huérfano para el tratamiento de una enfermedad de prevalencia ultrabaja<sup>10,11</sup>.

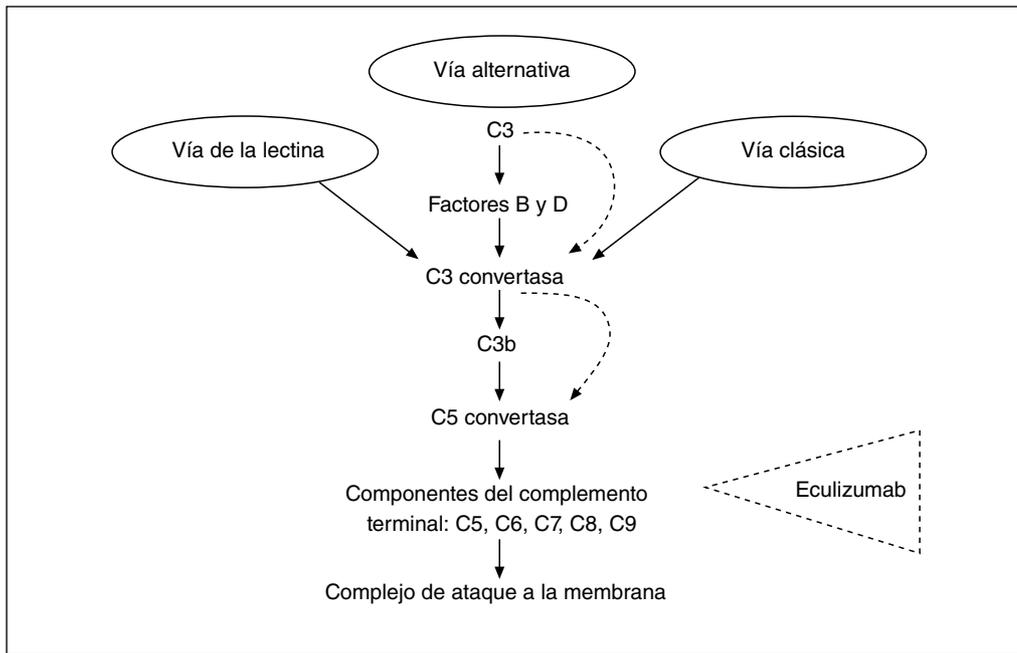
### Síntesis de ecuzumab

Ecuzumab es un anticuerpo monoclonal humanizado recombinante, con gran afinidad hacia la proteína C5 del complemento humano. Se trata de una inmunoglobulina G<sub>2</sub>/G<sub>4</sub> del tipo kappa (IgG<sub>2/4κ</sub>), constituida por regiones constantes humanas y regiones determinantes de complementariedad (CDR) de origen murino, injertadas en un marco humano de regiones variables de cadena pesada y ligera. Ecuzumab está constituido por dos cadenas pesadas de 448 aminoácidos y dos cadenas ligeras de 214, que totalizan un peso molecular de 148 kDa.

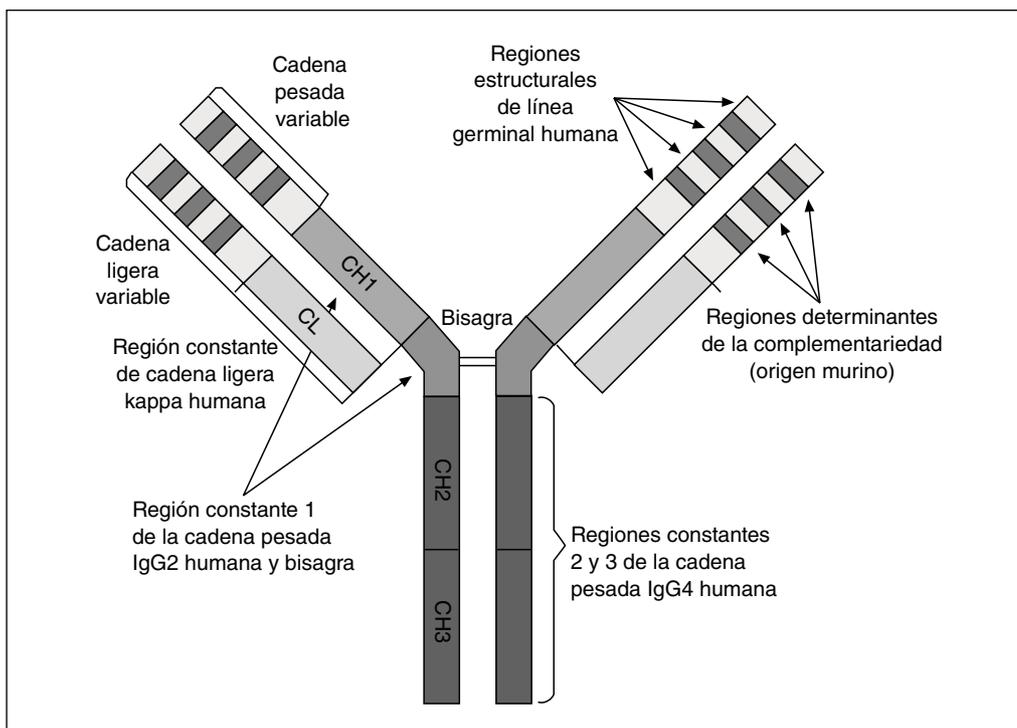
Para obtener un inhibidor potente de la proteína C5 del complemento se generaron paneles de anticuerpos monoclonales murinos anti-C5 humano en los que se testó su capacidad para inhibir la lisis de eritrocitos de pollo sensibilizados con anticuerpos, por el complemento humano<sup>12</sup>. Se clonaron y purificaron los candidatos más adecuados y se caracterizó su actividad funcional para identificar los anticuerpos anti-C5, que podían bloquear eficazmente la generación de C5a. Se escanearon aproximadamente un total de 30.000 hibridomas, de los que se seleccionó un anticuerpo monoclonal (m5G1.1 mAb) como candidato idóneo, ya que bloqueaba tanto la hemólisis mediante el complejo terminal de membrana, como la generación de C5a en una proporción molar de 0.5:1 de anticuerpo C5. El fragmento m5G1.1 mAb se unió al C5 humano a través de la región N-terminal de la cadena alfa.

Para reducir la inmunogenicidad se clonaron e injertaron las CDR de m5G1.1 mAb en las cadenas ligeras y pesadas de la estructura del anticuerpo<sup>12-14</sup> (fig. 2). La cadena pesada de la estructura del anticuerpo derivó de la región variable del anticuerpo H20C3H<sup>15</sup> que no contenía ningún cambio en aminoácidos respecto a la secuencia original. La estructura de la cadena ligera derivó de la región variable del anticuerpo I.23<sup>16</sup>, que contiene sólo un cambio en un aminoácido respecto a la secuencia original, de tal manera que se minimiza el potencial inmunógeno, ya que el sistema inmunitario de cualquier individuo debería tolerar, en principio, estas secuencias.

Correo electrónico: fjane@santpau.cat



**Figura 1.** Activación del complemento. Cada una de las vías es activada por un evento distinto. La vía alternativa (importante para la hemoglobinuria paroxística nocturna) está siempre activada a bajo nivel. Las tres vías convergen en la activación de C3. Eculizumab evita la formación del complejo de ataque de membrana uniéndose a la fracción C5<sup>9</sup>.



**Figura 2.** Estructura de ecuzimab. Para disminuir la inmunogenicidad se insertaron regiones murinas determinantes de la complementariedad en las cadenas pesada y ligera del anticuerpo humano<sup>14</sup>.

## Desarrollo preclínico

Dada la naturaleza de ecuzimab, para averiguar su actividad farmacológica in vivo se utilizó un anticuerpo C5 anti-ratón subrogado (BB5.1), que demostró una actividad inhibitoria del complemento terminal comparable a ecuzimab. Como no existen modelos animales para la HPN, se utilizaron modelos in vivo de otras enfermedades en las que igualmente está involucrada la activación del complemento terminal. En un modelo de artritis inducida por colágeno, BB5.1 evitó el desarrollo de la enfermedad y mejoró el curso de la artritis previamente establecida<sup>17</sup>. El tratamiento con BB5.1 también consiguió mejorías en la insuficiencia renal y prolongó la supervivencia extraordinariamente en un modelo autoinducido de lupus<sup>18</sup>. Estos modelos aportaron pruebas

sustanciales de que, bloqueando funcionalmente el anticuerpo anti-C5, se puede bloquear de manera efectiva y consistente el complemento terminal, lo que lleva a una disminución de la inflamación consiguiente. El anticuerpo subrogado BB5.1 también se utilizó en estudios de toxicidad en ratones en los cuales no se observaron anomalías significativas ni mortalidad relacionada con ningún metabolito.

## Desarrollo clínico incipiente

Los primeros estudios en humanos se realizaron en pacientes con artritis reumatoide y lupus eritematoso sistémico<sup>19,20</sup> y en pacientes con cirugía coronaria e infarto de miocardio, respectivamente<sup>21,22</sup>. Para ello, se empleó un anticuerpo de cadena única, variante de ecuzi-

zumab, llamado pexeculizumab. Estos estudios tuvieron dos objetivos: determinar el esquema de dosificación para futuros ensayos y establecer la seguridad inicial de la inhibición terminal del complemento en humanos. Los participantes recibieron una única dosis de eculizumab de entre 0,1 y 8 mg/kg; todas las dosis testadas resultaron seguras y fueron bien toleradas. La dosis de 8 mg/kg (600 mg aproximadamente en total) permitió un bloqueo completo del complemento durante 7-14 días. También se llevaron a cabo estudios de dosificación múltiple y crónica en pacientes con glomerulonefritis membranosa y con artritis reumatoide<sup>23,24</sup>.

### Farmacocinética y metabolismo

Mediante un modelo estándar monocompartimental, se llevó a cabo un análisis farmacocinético de dosis múltiples en 40 pacientes con HPN que estaban recibiendo eculizumab de acuerdo con el régimen recomendado. En estos pacientes, se encontró una concentración máxima en plasma de eculizumab de  $194 \pm 76 \mu\text{g/ml}$  y media de  $97 \pm 60 \mu\text{g/ml}$  a las 26 semanas. El volumen de distribución (para un paciente de 70 kg y utilizando el modelo descrito) es de 7,7 l, con un aclaramiento de 22 ml/h y una semivida de eliminación  $\pm$  desviación estándar de  $272 \pm 82$  h. El estadio estacionario se alcanza después de 150 días; una vez en éste, la tasa de acumulación ( $R_{acc}$ ) es de 1,73, lo que indica una acumulación mínima en el tiempo<sup>14</sup>.

Los anticuerpos humanos presentan digestión endocítica en las células del sistema reticuloendotelial. Eculizumab contiene sólo aminoácidos naturales y no tiene metabolitos activos conocidos. No se han realizado estudios específicos para evaluar las vías de excreción y eliminación hepática, renal, pulmonar ni gastrointestinal de eculizumab. Tampoco se han realizado estudios para evaluar la farmacocinética de eculizumab en poblaciones especiales (pediátrica o geriátrica) ni según sexo o raza. Tampoco se ha estudiado la farmacocinética en presencia de insuficiencia renal o hepática.

### Farmacodinamia

La actividad farmacodinámica de eculizumab se correlaciona directamente con sus concentraciones séricas, que se mantienen en valores  $> 35 \mu\text{g/ml}$ , lo que determina un bloqueo completo de la actividad hemolítica *in vivo*<sup>25</sup>.

En el estudio Transfusion Reduction Efficacy and Safety Clinical Investigation Using Eculizumab (TRIUMPH), eculizumab demostró una reducción de la hemólisis mediante la disminución de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) desde unos valores basales de  $2.199,7 \pm 157,7$  U/l a  $700 \pm 38,8$  U/l al final de la primera semana; el efecto se mantuvo hasta el final del estudio (semana 26), con unos valores finales de LDH de  $327,3 \pm 67,6$  U/l. El efecto también se mantuvo en el grupo tratado con eculizumab, que ingresó en la fase de extensión abierta del estudio hasta las 52 semanas de tratamiento<sup>26</sup> (fig. 3).

### Ensayos clínicos

En un ensayo piloto abierto y de 12 semanas de duración, se estudiaron la seguridad, la farmacocinética, la farmacodinámica y la inmunogenicidad de eculizumab en 11 pacientes. Todos los participantes fueron previamente vacunados y recibieron eculizumab a dosis de 600 mg semanalmente las primeras 4 semanas, 900 mg la quinta semana y 900 mg cada dos semanas hasta la semana 12. Las concentraciones de eculizumab se mantuvieron por encima de  $35 \mu\text{g/ml}$  desde la primera hora tras la primera infusión. Los niveles de LDH cayeron desde una media de  $3.111 \pm 398$  U/l a  $594 \pm 32$  U/l ( $p = 0,002$ ). Los paroxismos de hemoglobinuria se redujeron desde 2,9 días/paciente/mes hasta 0,12 días/paciente/mes ( $p < 0,001$ ). La calidad de vida también mejoró significativamente. No se detectaron anticuerpos contra eculizumab en ningún paciente<sup>27</sup>. Se realizó una fase de extensión de 12 meses en la que los pacientes recibieron 900 mg cada dos sema-

nas. Los valores de LDH se mantuvieron igualmente bajos. El número de paroxismos alcanzó una media de 0,2 días/paciente/mes al final de los 12 meses. Durante el año de tratamiento, no se registró ningún evento trombotico ni muerte. Todos los pacientes reportaron al menos un acontecimiento adverso. Hubo un acontecimiento adverso grave en un paciente que presentó neutropenia con hemólisis extravascular, probablemente relacionado con un síndrome viral<sup>25</sup>.

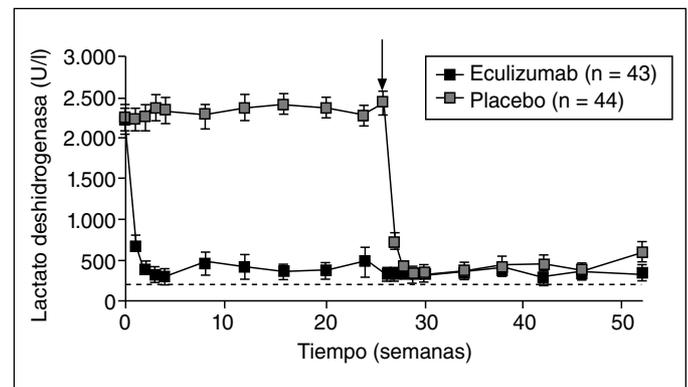
El ensayo clínico TRIUMPH (doble-cego, aleatorizado y controlado con placebo) reclutó a un total de 87 pacientes con HPN de los cuales 44 recibieron eculizumab y 43 placebo.

En 42 de los 43 pacientes tratados con eculizumab, la actividad hemolítica del suero fue totalmente bloqueada con una dosis de 900 mg cada dos semanas. Como ya se ha señalado, los valores de LDH disminuyeron desde  $2.199,7 \pm 157,7$  U/l hasta  $327,3 \pm 67,6$  U/l a la semana 26 en el grupo tratado con eculizumab en comparación con el incremento que registró el grupo placebo: de  $2.258,0 \pm 154,8$  U/l a  $2.418,9 \pm 140,3$  U/l a la semana 26 ( $p < 0,001$ ).

La media de concentrados de hematías al final de las 26 semanas fue de  $3,0 \pm 0,7$  en el grupo que recibió eculizumab frente a  $11,0 \pm 0,8$  en los pacientes que recibieron placebo. Un 51% de los pacientes tratados con eculizumab no necesitaron transfusiones en comparación con ningún paciente del grupo placebo ( $p < 0,001$ ). La calidad de vida (medida con los cuestionarios FACIT y EORTC QLQ) mejoró significativamente con eculizumab en comparación con placebo<sup>26</sup>.

Recientemente, se han publicado los resultados de un segundo estudio llamado Safety and Efficacy of the Terminal Complement Inhibitor Eculizumab in Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (SHEPHERD). Se trata de un ensayo clínico en fase III, abierto, no controlado con placebo, cuyo objetivo principal es valorar la eficacia y la seguridad de eculizumab a largo plazo en pacientes con HPN. Se incluyó a 97 pacientes, de los cuales 96 completaron las 52 semanas de duración del estudio. Todos los participantes fueron tratados con la misma pauta de tratamiento que en los ensayos previos. Al final del estudio, los valores de LDH se redujeron desde una media basal de  $2.051$  U/l a  $269$  U/l ( $p < 0,001$ ). Un 51% de los pacientes no necesitó ninguna transfusión durante el ensayo y 89 de los 97 obtuvieron una inhibición completa de la actividad hemolítica del suero. Como en el estudio TRIUMPH, la calidad de vida (EORTC QLQ) mejoró significativamente con el tratamiento<sup>27</sup>.

Para determinar el efecto del tratamiento con eculizumab en las tasas de trombosis, principal causa de morbimortalidad en la HPN, se realizó un análisis conjunto de los tres ensayos clínicos descritos. El tratamiento con eculizumab disminuyó la tasa total de tromboembolismo desde 7,37 eventos/100 años-paciente previo al tratamiento,



**Figura 3.** Reducción de la hemólisis durante el tratamiento con eculizumab. Los niveles de lactato deshidrogenasa (LDH) reflejan el grado de hemólisis desde la situación basal hasta las 52 semanas. La línea de puntos indica el límite superior de normalidad (103-223 U/l). En los pacientes tratados con eculizumab la LDH rápidamente desciende hasta la normalidad, mientras que en los del grupo placebo continúa elevada. La flecha indica la transición de los pacientes tratados con placebo y eculizumab en la fase de extensión del estudio TRIUMPH<sup>14</sup>.

hasta 1,07 eventos/años-paciente con tratamiento ( $p < 0,001$ ), y mostró una disminución del 85%<sup>26,28,29</sup>. En los pacientes que recibían antitrombóticos, la tasa previa de trombosis fue de 10,61 eventos/100 años-paciente comparado con 0,62 eventos/100 años-paciente tras recibir tratamiento con eculizumab ( $p < 0,001$ ). Cuando se analizaron los pacientes que recibían anticoagulantes (excluidos los que recibían agentes antiplaquetarios), las tasas fueron de 11,54 eventos/100 años-paciente frente a 0,72 eventos/100 años-paciente después de recibir tratamiento con eculizumab ( $p < 0,001$ )<sup>29</sup>.

## Seguridad

La tolerabilidad y la toxicidad de eculizumab en la HPN se han estudiado en tres ensayos clínicos que incluyeron a un total de 195 pacientes en tratamiento activo, la mayoría de los cuales fueron seguidos posteriormente en una fase de extensión. Los acontecimientos adversos observados con mayor frecuencia fueron cefalea, mareos, náuseas y pirexia, en el 5% o más de los pacientes: cefalea (44%), nasofaringitis (23%), dolor de espalda (19%), náuseas (16%), fatiga (12%), tos (12%), infecciones por herpes simple (7%), infecciones del tracto respiratorio (7%), estreñimiento (7%), mialgias (7%), dolor en una extremidad (7%) y síntomas gripales (5%)<sup>26</sup>.

La mayoría de los eventos adversos fueron leves o moderados.

Se registraron eventos adversos graves en un 9% de los pacientes tratados con eculizumab en comparación con un 21% de los pacientes que recibieron placebo<sup>26</sup>. En todos los ensayos clínicos realizados, el acontecimiento adverso más grave fue la septicemia meningocócica que se dio en dos pacientes de HPN vacunados.

Respecto a la inmunogenicidad, en todos los estudios sobre HPN y otras enfermedades realizados con eculizumab se han detectado, de forma infrecuente, respuestas a títulos bajos de anticuerpos en los pacientes tratados; esta frecuencia es similar con eculizumab (3,4%) y con placebo (4,8%). No se ha notificado ningún paciente que haya desarrollado anticuerpos neutralizantes después del tratamiento con eculizumab y no se ha observado ninguna correlación entre el desarrollo de anticuerpos y la respuesta clínica o los efectos adversos.

No se han realizado estudios que evalúen las interacciones de eculizumab con otros fármacos.

## Dosificación y administración

Eculizumab está indicado para el tratamiento de los pacientes con HPN. La pauta posológica comprende una fase inicial de 5 semanas, seguida de una fase de mantenimiento. Durante las primeras 4 semanas deben administrarse 600 mg de eculizumab mediante una perfusión intravenosa semanal de 25-45 min de duración; en la quinta semana, la dosis debe ser de 900 mg. En la fase de mantenimiento se administran 900 mg de eculizumab (igualmente en perfusión endovenosa de 25-45 minutos) cada  $14 \pm 2$  días.

Para disminuir el riesgo de infección meningocócica (*Neisseria meningitidis*), debe vacunarse a todos los pacientes al menos dos semanas antes de la administración de eculizumab y deben revacunarse de acuerdo con las directrices médicas sobre vacunación vigentes.

## Conclusiones

Eculizumab representa un avance importante en el tratamiento de la HPN. Si bien hasta el momento, la experiencia clínica es aún limitada, los ensayos a largo plazo en pacientes con HPN apoyan la eficacia y la seguridad de eculizumab con pocos acontecimientos adversos graves. El tratamiento con eculizumab consigue disminuir la hemólisis crónica y la fatiga y aumenta la calidad de vida que presentan los pacientes con HPN. Además, disminuye las necesidades transfusionales y evita los eventos tromboembólicos, principal causa de morbimortalidad en estos pacientes. Por todo ello, supone una buena opción como tratamiento de la HPN.

## Bibliografía

- Strubing P. Paroxysmale haemoglobinurie. Deutsche Med Wochenschrift. 1882;8: 1-16.
- Meletis J, Terpos E. Recent insights into pathophysiology of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Med Sci Monit. 2003;9:161-72.
- Brodsky RA. New insights into paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2006;8:516.
- Parker CJ. The pathophysiology of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Exp Hematol. 2007;35:523-33.
- Hill A, Richards SJ, Hillmen P. Recent developments in the understanding and management of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. Br J Hematol. 2007;137: 181-92.
- Rosse WF, Hillmen P, Scgreuber AD. Immune-mediated hemolytic anemia. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2004:48-62.
- Saso R, Marsh J, Cevreska L, Szer J, Gale RP, Rowlings PA, et al. Bone marrow transplants for paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. Br J Haematol. 1999;104:392-6.
- Parker C, Omine M, Richards S, Nishimura J, Bessler M, Ware R, et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood. 2005;106: 3699-709.
- Charneski L, Patel PN. Eculizumab in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. Drugs. 2008;68:1341-6.
- FDA approves first-of-its-kind drug to treat rare blood disorder. US Food and Drug Administration. 16 Marzo 2007. Disponible en: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/2007/ucm108869.htm>
- Meeting highlights from the Committee for Medicinal Products for Human Use. European Medicines Agency. 23-26 abril de 2007. Disponible en: <http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/press/pr/18656607en.pdf>
- Thomas TC, Rollins SA, Rother RP, Giannoni MA, Hartman SL, Elliott EA, et al. Inhibition of complement activity by humanized anti-C5 antibody and single-chain Fv. Mol Immunol. 1996;33:1389-401.
- Riechmann L, Clark M, Waldmann H, Winter G. Reshaping human antibodies for therapy. Nature. 1988;332:323-7.
- Rother RP, Rollins SA, Mojcik CF, Brodsky RA, Bell L. Discovery and development of the complement inhibitor eculizumab for the treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Nat Biotechnology. 2007;25:1256-64.
- Weng NP, Yu-Lee LY, Sanz I, Patten BM, Marcus DM. Structure and specificities of anti-ganglioside autoantibodies associated with motor neuropathies. J Immunol. 1992;149:2518-29.
- Klein R, Jaenichen R, Zachau HG. Expressed human immunoglobulin kappa genes and their hypermutation. Eur J Immunol. 1993;23:3248-62.
- Wang Y, Rollins SA, Madri JA, Matis LA. Anti-C5 monoclonal antibody therapy prevents collagen-induced arthritis and ameliorates established disease. Proc Natl Acad Sci USA. 1995;92:8955-9.
- Wang Y, Hu Q, Madri JA, Rollins SA, Chodera A, Matis LA. Amelioration of lupus-like autoimmune disease in NZB/WF1 mice after treatment with a blocking monoclonal antibody specific for complement component C5. Proc Natl Acad Sci USA. 1996; 93:8563-8.
- Jain RI, Moreland LW, Caldwell JR, Rollins SA, Mojcik CF. A single dose, placebo controlled, double blind, phase I study of the humanized anti-C5 antibody h5G1.1 in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 1999;42:S77.
- Rother RP, Mojcik CF, McCroskery EW. Inhibition of terminal complement: a novel therapeutic approach for the treatment of systemic lupus erythematosus. Lupus. 2004;13:328-34.
- Verrier ED, Sherman SK, Taylor KM, Van de Werf F, Newman MF, Chen JC. Terminal complement blockade with pexelizumab during coronary artery bypass graft surgery requiring cardiopulmonary bypass: a randomized trial. JAMA. 2004;291: 2319-27.
- APEX AMI Investigators, Armstrong PW, Granger CB, Adams PX, Hamm C, Holmes D Jr, et al. Pexelizumab for acute ST-elevation myocardial infarction in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial. JAMA. 2007;297:43-51.
- Tesser J, Kiuizitiz A, Francis X, Burch MD. Safety and efficacy of the humanized anti-C5 antibody h5G1.1 in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2001;44:S274.
- Appel G, Nachman P, Hogan SL, Rodhakrishnan J, Old C, Herbert L, et al. Eculizumab (C5 complement inhibitor) in the treatment of idiopathic membranous nephropathy (IMN): Preliminary baseline and pharmacokinetic (PK)/pharmacodynamic (PD) data. J Am Soc Nephrol. 2002;13: 668A.
- Hill A, Hillmen P, Richards SJ, Elebute D, Marsh JC, Chan J, et al. Sustained response and long-term safety of eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood. 2005;106:2559-65.
- Hillmen P, Young MD, Schubert MD, Brodsky RA, Socié G, Muus P, et al. The complement inhibitor eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. N Engl J Med. 2006;355:1233-43.
- Brodsky RA, Young NS, Antoniolio E, Antonio M, Risitano AM, Schrezenmeier H, et al. Multicenter phase 3 study of the complement inhibitor eculizumab for the treatment of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood. 2008; 111:1840-7.
- Hillmen P, Hall C, Marsh J, Elebute M, Bombara MP, Petro BE, et al. Effect of eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. N Engl J Med. 2004;350:552-9.
- Hillmen P, Muus P, Dührsen U, Risitano AM, Schubert, Luzzatto L, et al. Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood. 2007;110:4123-8.