

# Un „nou-născut” a completat familia anticolinergicilor

## Abstract

### **A “newborn” completed the anticholinergics family**

*Emergence of a new ultra-long acting anticholinergic as glycopyrronium can bring a change of attitude in the life of practitioner. In this article I try to correctly position the new representative of the anticholinergics class, looking at all the evidence in vitro and in vivo, benefits, tolerability and safety of this product. Finally, on scientific evidence-based medicine I positioned this product in the new GOLD 2011 classification.*

**Keywords:** glycopyrronium, COPD, treatment, GOLD 2011

## Rezumat

*Apariția unui nou anticolinergic de ultralungă durată de acțiune, precum glycopyrronium, poate aduce o schimbare de atitudine în viața practicianului. În acest articol încerc să poziționez corect acest nou reprezentant al clasei anticolinergicilor, analizând pe rând dovezile in vitro și in vivo, beneficiile, toleranța și siguranța utilizării acestui produs. Nu în ultimul rând, pe baza dovezilor științifice se poziționează acest medicament în noua clasificare GOLD 2011.*

**Cuvinte-cheie:** glycopyrronium, BPOC, tratament, GOLD 2011

## Florin Mihălțan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>. Institutul de Pneumologie „Marius Nasta” București

### Contact:

Prof. Dr. Florin Mihălțan,  
Institutul de Pneumologie  
„Marius Nasta”, Sos. Viiilor 90,  
Sector 5, 050159 București,  
e-mail: mihaltan@starnets.ro

Sfârșitul anului 2011 a adus o revizuire a ghidului GOLD, unde regăsim, de fiecare dată în noua clasificare, indiferent că vorbim de prima opțiune sau a doua opțiune de tratament, anticolinergicele de lungă durată (ACDLA). Astfel, această clasă este prima opțiune terapeutică în stadiile B, C și D, în competiție cu beta 2 adrenergicele de lungă durată (BADLA) sau ale asocierii acestora cu corticoizii. Ca a doua opțiune terapeutică, ele pot fi alese în toate cele patru stadii ale noii clasificări<sup>1</sup>.

## Scurt istoric al evoluției clasei anticolinergicilor

Clasa anticolinergicilor a avut un istoric agitat, cu apariții consecutive ale anticolinergicilor de scurtă durată, gen atropină, ipratropium bromid, oxitropium bromid, pentru ca ulterior să se treacă la cele de lungă durată, cu un deschizător de drumuri – tiotropium și, mai recent, cu aclidinium și glycopyrronium (NVA-237). Bătălia, din momentul lansării antagoniștilor muscarinici de scurtă durată, a fost cu clasa beta 2 adrenergicele de scurtă durată, față de care, deși au o instalare a efectului mai lentă, au o durată de acțiune ușor mai lungă (efect bronhodilatator peste 8 ore)<sup>2</sup>. Aceeași competiție s-a menținut o dată cu apariția noilor anticolinergice de lungă durată, de data aceasta cu beta 2 adrenergicele de lungă durată (salmeterol, formoterol, arformoterol). Toate produsele din clasa anticolinergicilor de lungă și ultralungă durată dovedesc o mare afinitate și acțiune potentă pe receptorii umani M3 (hM3).

Dacă în anii 2005-2010 se vorbea de studii de fază 3 pentru glycopyrronium<sup>3</sup> și puține date erau publice, ulterior articolele, publicațiile și prezentările la congrese legate de acest ultra-long anticolinergic (peste 30 de ore de răspuns bronhodilatator) au explodat, ceea ce ne permite, în acest material, să facem o trecere în revistă pe larg a acestora.

## Ce aduce nou molecula de glycopyrronium in vivo?

Care ar trebui să fie caracteristicile unui LAMA ideal? Aceasta cred că se impune ca întrebare din start. Dacă privim la ce spun liderii de opinie, aflăm că ar trebui să aibă o puternică selectivitate pentru receptorul muscarinic tip 3 (M3), o durată lungă de acțiune (de preferat 24 de ore) și să inducă o bronhodilație semnificativă clinic, în condiții de

siguranță<sup>4,5</sup>. La acestea ar trebui să se adauge o eficacitate prelungită și o administrare unică la 24 de ore, care să permită o ameliorare a complianței la tratament a pacientului. De asemenea, la toate acestea ar mai trebui să se adauge, ca efect resimțit de pacient, și o ameliorare consistentă în timp a calibrului căilor aeriene, care să contrasteze cu vârfurile de bronhodilație găsite, de obicei, la cei cu administrări de bronhodilatoare de două ori pe zi<sup>5,6,7</sup>, gen aclidinium (un alt anticolinergic recent apărut). Avantajul acestui nou anticolinergic, - 3-[(cyclopentylhydroxyphenylacetyloxy]- 1,1-dimethyl-pyrrolidiniumbromide (NVA237) (glycopyrronium bromid), constă în instalarea rapidă a efectului bronhodilatator, mult mai rapid decât pentru tiotropium, un beneficiu care, după mai mulți autori, ar putea reconfirma efectul la distanță în timp și creșterea suplimentară a complianței bolnavilor la medicație, pe termen lung<sup>8</sup>. Deoarece se știe că tiotropiumul are un timp de înjumătățire crescut, unii autori au studiat, în condiții fiziologice, cât de relevant este acest timp de disociere (de înjumătățire), atât pentru produsul nou, în administrare unică, cât și pentru tiotropium. În paralel, au investigat selectivitatea cineticii pentru fiecare din subtipurile de receptori muscarinici, urmărindu-se dacă ameliorarea indexului terapeutic cardiovascular (demonstrat pe animale) este atribuibilă diferențelor în constantele care analizează cinetica<sup>9</sup>.

S-a investigat legarea unui radioligand, ([<sup>3</sup>H]N-methylscopolamine), în prezența/ absența unor concentrații diferite ale celor două produse și s-a remarcat:

- un timp de disociere (înjumătățire) pentru NVA237 și tiotropium în condiții fiziologice (11,4 și 46,2 minute) versus non-fiziologice (173, respectiv 462 de minute) mai scurt;

- o acțiune mai rapidă instalată pentru NVA237 *in vitro*, pe preparate de trahee de șobolan (de 3-4,8 ori mai mare). Simularea a sugerat că această acțiune mai rapidă poate fi explicată de diferența în parametrii cinetici, NVA237 având o legare mai echilibrată și o selectivitate mai mare pentru receptorii muscarinici tip M3 versus M2 (de 10,7 ori mai selectiv față de receptorii M3, cu un „off rate” mai rapid de M2 versus M3 față de tiotropium) și practic cu un index terapeutic mai favorabil. Acest studiu sugerează, de fapt, că durata de 24 de ore a acțiunii NVA237 și a tiotropium nu este doar rezultatul unui timp de înjumătățire prelungit

legat de receptorii M3, dar și că experimentele *in vitro* sunt importante, când reflectă condițiile *in vivo*.

Este studiul care contrazice rezultatele semnalate de Haddad și colab. și de Casarosa și colab. în 1994, respectiv 2009, care, tot în condiții non-fiziologice, sugerau că ambii produși erau neselectivi pentru toate subtipurile de receptori muscarinici<sup>10,11</sup>.

## Ce aduce nou molecula de glycopyrronium, din punct de vedere clinic?

### 1. Date generale care motivează utilizarea acestei molecule. Scurt istoric al descoperirii acesteia

Dispneea este simptomul „marker” al BPOC-ului, inducând invaliditate și anxietate. Bronhodilatatoarele reduc volumul rezidual, prin diminuarea „air trapping-ului” și ameliorarea capacității de exsufare a aerului, cu efecte indirecte vizibile în capacitatea de efort și diminuarea dispneei<sup>12</sup>. Glycopyrronium bromide a fost utilizat, ani la rând, în tablete sau injecții, ca o medicație suplimentară în ulcerul peptic (pentru efectele de diminuare a secrețiilor și blocare a reflexelor vagale înainte de intervenția chirurgicală). Ulterior, a fost studiat efectul ca medicament administrat pe cale inhalatorie.

Molecula este un compus sintetic cuaternar de amoniu, acționând ca un competitor antagonist pentru receptorii muscarinici din musculatura netedă bronșică, inhibând bronhoconstricția indusă de acetilcolină. Se leagă la toate cele 5 subtipuri de receptori muscarinici M1-M5, recunoscut fiind efectul bronhoconstrictor princeps al M3-ului. Blocarea M2 atenuează feedback-ul inhibitor al producției de acetilcolină și poate reduce efectul bronhodilatator al agentului antimuscarinic, iar pe de altă parte, poate crește ritmul cardiac. Un anticolinergic ideal trebuie să aibă, prin urmare, o afinitate crescută față de M1 și M3 și o afinitate mai scăzută față de M2. În studiile *in vivo*, glycopyrronium are aceeași selectivitate înaltă ca și tiotropium, mai evidentă pentru M3 decât M2 și similară cu tiotropium și aclidinium, un timp de înjumătățire mai lent față de receptorii M3, în comparație cu cel de legare de M2<sup>13</sup>. Glycopyrronium menține însă o blocadă mai lungă pe M3, în condițiile în care efectele nedorite M2, de creștere a ratei cardiace, sunt mai reduse<sup>14</sup>. Absorbția sistemică redusă (datorată diminuării absorbției prin membrana mucoasă) poate scădea efectele adverse sistemice (bradicardia și hipotensiunea) și conferă un profil de siguranță superior altor antagoniști muscarinici<sup>15</sup>.

### 2. Studii clinice, indicații

#### a. Primele studii

Verkindre și colab. au publicat unul din primele studii dublu-orb, placebo-controlate, la pacienți cu BPOC stabil moderat și sever, folosind glycopyrronium în doze de 12,5, 25, 50 sau 100 μg versus placebo sau tiotropium (18 μg), timp de 7 zile<sup>16</sup>. La dozele de glycopyrronium de 50 μg și 100 μg a existat o diferență față de placebo, din ziua întâi, și chiar dacă nu a existat o diferență semnificativă clinică în ameliorarea VEMS-ului față de tiotropium, datele obținute au demonstrat o bună toleranță și o rapidă și susținută bronhodilație pe 24 de ore, comparabilă cu tiotropium. Reluat de Vogelmeier și colab., un astfel de studiu placebo-controlat al eficacității a două doze de glycopyrronium (100 μg și 200 μg), la aceleași forme de BPOC, a constatat că, pentru doza de 100 μg, diferența față

de placebo, în zilele 1 și 28, a fost de 131 mL și 161 mL, iar pentru doza de 200 μg s-a constatat o diferență a VEMS-ului de 146 și 151 mL<sup>17</sup>.

O privire asupra utilizării medicamentului în BPOC-ul moderat, unde există un răspuns de 5% la inhalatia de ipratropium bromid, arată că după 50 μg, administrat timp de 14 zile, se ajunge la o diferență față de placebo de 163 mL, iar la 7 zile, diferența medie era de 208 mL<sup>18</sup>.

Dacă toate aceste studii, menționate până acum, erau pe loturi mici și perioade scurte, ulterior au fost publicate și studii pe loturi mult mai mari și perioade mai lungi (studii de fază 3), cum este GLOW1 (The glycopyrronium bromide in COPD airways clinical study 1), unde 552 de pacienți au fost urmăriți timp de 26 de săptămâni versus placebo. La 12 săptămâni, diferența pe VEMS era de 108 ± 15 mL ( $p < 0.001$ ), în favoarea glycopyrronium, diferențele fiind vizibile din prima zi și menținute până în a 26-a săptămână, cu diferențe semnificative statistic la toate vizitele intermediare<sup>19</sup>.

#### b. Comparațiile cu alte bronhodilatatoare

Studiul GLOW2<sup>20</sup>, studiu deschis („open label”), care a inclus pacienți cu BPOC moderat și sever, a investigat efectul glycopyrronium bromide 50 μg, administrat o dată pe zi, versus tiotropium 18 μg, administrare unică sau placebo, timp de 52 de săptămâni. La 12 săptămâni s-a înregistrat o diferență la glycopyrronium, respectiv tiotropium, versus placebo, de 97 mL ( $p < 0.001$ ) și 83 mL ( $p < 0.001$ ), diferență care se menține și la săptămâna 26, și la săptămâna 52 și este comparabilă între cele două medicații (134 mL și 108 mL pentru glycopyrronium versus placebo,  $p < 0.001$  și 84 mL și 89 mL pentru tiotropium versus placebo,  $p < 0.001$ ). În schimb, măsurarea în prima zi a VEMS-ului, la 5 minute și la 15 minute, a demonstrat o instalare mai rapidă a acțiunii glycopyrronium, comparativ cu instalarea efectului tiotropium (45 mL și respectiv 143 mL). Față de aclidinium bromid, un alt anticolinergic cu durată lungă de acțiune, dar cu administrare de două ori pe zi (durata de acțiune de 12 ore), studiile sunt în derulare.

### 3. Hiperinflația și capacitatea de efort

Hiperinflația dinamică și dispneea sunt principalele motive de limitare și diminuare a toleranței la efort, pentru pacienții cu forme de BPOC moderate și severe. Pe un lot reprezentativ (108 pacienți) - studiul GLOW3<sup>21</sup>, administrarea a 50 μg de glycopyrronium, timp de trei săptămâni, aduce o ameliorare imediată și semnificativă a toleranței la efort, din prima zi, însoțită de o reducere a hiperinflației (indicată de ameliorare semnificativă a capacității inspiratorii, în aceeași unitate de timp, cu îmbunătățirea VEMS-ului și modificarea scorului tranzițional de dispnee (scorul transitional dispnea index - TDI focal, la 26 de săptămâni, s-a modificat cu 1,04 puncte). Aceeași diferență semnificativă pe capacitatea inspiratorie, explicată prin efectul pe hiperinflația dinamică, ca urmare a terapiei cu glycopyrronium versus placebo, a fost regăsită de D'Urzu și colab. La sfârșitul primei zile, în săptămâna a 12-a și apoi a 26-a, s-a înregistrat deja o creștere de 104 mL, 97 mL și respectiv 113 mL la lotul de pacienți tratați cu glycopyrronium versus placebo<sup>19</sup>. În studiul GLOW3, scala BORG s-a modificat, în ziua 21, cu 20% la pacienții care au primit glycopyrronium<sup>21,22</sup>.

#### 4. Calitatea vieții, medicația simptomatică (de urgență)

Calitatea vieții este un parametru important în viața unui pacient cu BPOC. Pacientul cu glycopyrronium a apelat la mai puțină medicație de urgență (în 28 de zile de tratament, cu 100 µg sau 200 µg, s-a ajuns la o scădere a numărului de pufuri de -0,55, respectiv -0,26, versus +0,51 în grupul placebo)<sup>17</sup>. În GLOW1, diferența era la fel de vizibilă față de placebo: 0,46 pufuri per zi<sup>19</sup>, iar în GLOW2, de 0,37 pufuri pe zi<sup>20</sup>. În completare, vine modificarea scorului tranzițional de dispnee în săptămâna a 26-a<sup>19</sup>, cu o depășire de 1,04 față de placebo și o șansă de 1,7 ori mai mare de a avea cel puțin 1 punct diferență, iar diferențele pe chestionarele Saint George sunt de 2,81, cu o șansă de a avea o reducere de 4 puncte (semnificativă clinic) pentru 56,8% din pacienții tratați cu glycopyrronium.

#### 5. Exacerbările

Diminuarea numărului de exacerbări este, de asemenea, de mare importanță, când se judecă eficiența unui nou medicament. Răspunsurile și consecințele asupra exacerbărilor legate de glycopyrronium vin tot din studiile pe loturi mari, de tip GLOW1<sup>19</sup>, unde la 26 de săptămâni s-a remarcat că sub tratamentul cu glycopyrronium doar 17,5% din pacienți au avut exacerbări moderate sau severe, versus 24,2% în grupul placebo<sup>19</sup>. Concomitent, s-a redus semnificativ riscul de exacerbare care atrage o spitalizare (1,7% versus 4,2% pentru grupul placebo), precum și riscul de exacerbare în BPOC, raportat ca timpul până la prima exacerbare moderată sau severă: reducere cu 31% la lotul cu glycopyrronium versus placebo. Toate aceste rezultate se regăsesc și în studiul GLOW2<sup>20</sup>, unde la pacienții tratați cu glycopyrronium se reduce riscul de exacerbare, raportat la timpul până la prima exacerbare moderată sau severă, cu 34%, valoare similară cu reducerea înregistrată pentru lotul la care s-a administrat tiotropium (39%), iar rata propriu-zisă a exacerbărilor moderate sau severe se reduce, de asemenea, cu 35%.

#### 6. Profil de siguranță, efecte adverse

Sechaud și colab.<sup>14</sup> au demonstrat că la pacienții cu BPOC ușor sau moderat nu există diferențe semnificative din punctul de vedere al reacțiilor adverse și acestea nu diferă față de placebo, cu excepția uscăciunii gurii, efect de clasă al anticolinergicilor.

În privința efectelor legate de rata cardiacă, urmărite pe 24 de ore, sau intervalul QT, într-un studiu care a inclus comparația cu indacaterol, placebo sau combinația indacaterol/ glycopyrronium, nu s-au înregistrat diferențe semnificative statistic, demonstrându-se astfel un profil cardiovascular sigur, chiar dacă mai sunt studii în derulare, care reverifică acel subiect atât de dezbătut, legat de decesele prin risc cardiovascular, infarct miocardic și accidente vasculare la

pacienții cu BPOC tratați cu anticolinergice inhalatorii<sup>23, 24</sup>. Toate aceste efecte pe termen scurt au fost verificate oricum prin studiile de fază 2, în urma cărora glycopyrronium a obținut înregistrarea de la forurile europene sau americane (EMA și FDA).

#### Rolul facilitatorului de administrare

Administrarea glycopyrronium se face cu un facilitator de tip „Breezhaler”, un dispozitiv inhalator care livrează o doză consistentă, indiferent de vârsta pacientului sau severitatea bolii, fără eșecuri de folosire<sup>26</sup>. „Breezhaler” are o rezistență la inspir mai redusă, comparativ cu „Handihaler”, ceea ce presupune mai puțin efort din partea pacientului, pentru a genera fluxul inspirator adecvat, fiind astfel foarte potrivit și pentru vârstnici sau pacienții cu forme severe de BPOC<sup>27</sup>.

#### Ce perspective deschide această nouă moleculă?

Studiile de fază 2<sup>27</sup> au arătat că o doză fixă, în combinația glycopyrronium (Seebri® Breezhaler®) și Indacaterol (Onbrez® Breezhaler®), cu administrare o dată pe zi, produce un efect rapid și susținut, comparativ cu indacaterolul sau glycopyrronium în monoterapie, la pacienții cu BPOC, iar programul de studii de fază 3, aflat în derulare, va încerca să demonstreze siguranța și eficacitatea și pe termen lung a acestei combinații în doză fixă. Există o cerere mare de medicație anticolinergică, care să se apropie de criteriile cerute de ultimul GOLD 2011 și de rigorile pe care trebuie să le îndeplinească un ACDLA, ca să fie ușor acceptat de pacient. Orice produs nou venit pe piață nu face altceva decât să înmulțească posibilitățile de combinare și de asociere a unor medicații eficiente.

#### Concluzii

Din toate studiile de până acum, se poate concluziona că glycopyrronium (NVA237), acest nou anticolinergic cu durată ultralungă de acțiune (24 de ore), este eficient, sigur și bine tolerat și că are avantajul demonstrat și reconfirmat, față de tiotropium, al instalării rapide a acțiunii. Utilizarea sa permite îmbunătățirea rapidă și importantă a funcției pulmonare, cu economie de medicație de urgență, cu ameliorarea scorului de dispnee, îmbunătățirea calității vieții, legată de sănătate, creșterea toleranței la efort și a capacității inspiratorii, precum și reducerea frecvenței exacerbărilor. Toate efectele sunt consecințele influenței benefice asupra hiperinflației dinamice, iar rezultatele sunt comparabile cu cele ale altor bronhodilatatoare de lungă/ ultralungă durată precum aclidinium, tiotropium sau indacaterol. Indicația glycopyrronium rămâne pentru pacienții cu BPOC moderat și sever, iar după noua clasificare GOLD, poate intra ca prima opțiune terapeutică la pacienții din grupele B, C și D și ca a doua opțiune de tratament la pacienții din grupa A<sup>27</sup>. ■

#### Bibliografie

1. Vestbo J, Hurd S.S. and Rodriguez-Roisin R. 2011 revision of the Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of COPD (GOLD) – why and what? *GOLD revision* – 2012. Blackwell Publishing Ltd.
2. Guy F Joos. Potential for long-acting muscarinic antagonists in chronic obstructive pulmonary disease. *Expert Opin. Investig. Drugs* 2010; 19(2):257-264.
3. Hansel TT, Neighbour H, Erin EM, et al. Glycopyrrolate causes prolonged bronchoprotection and bronchodilatation in patients with asthma. *Chest* 2005; 128(4):1974-9.
4. Tashkin DP. Is a long-acting inhaled bronchodilator the first agent to use

- in stable chronic obstructive pulmonary disease? *Curr Opin Pulm Med.* 2005; 11:121-128.
5. Donohue JF. Minimal clinically important differences in COPD lung function. *COPD* 2005; 2:111-124.
6. Vogelmeier C, Banerji D. NVA237, a long-acting muscarinic antagonist, as an emerging therapy for chronic obstructive pulmonary disease. *Ther Adv Respir Dis* 2011; 5:163-173.
7. Beeh KM, Beier J. The short, the long and the “ultra-long”: why duration of bronchodilator action matters in chronic obstructive pulmonary disease. *Adv Ther.* 2010; 27:150-159.

8. Bourbeau J, Bartlett SJ. Patient adherence in COPD. *Thorax*, 2008, 63:831-838.
9. Sykes DA, Dowling MR, Leighton-Davies J, Kent TC, Fawcett L, Renard E, Trifilieff A, Charlton SJ. The Influence of Receptor Kinetics on the Onset and Duration of Action and the Therapeutic Index of NVA237 and Tiotropium. *J Pharmacol Exp Ther*. 2012 Nov; 343(2):520-8.
10. Haddad EB, Mak JC, and Barnes PJ. Characterization of [3H] Ba 679 BR, a slowly dissociating muscarinic antagonist, in human lung: radioligand binding and autoradiographic mapping. *Mol Pharmacol* 1994, 45:899-907.
11. Casarosa P, Bouyssou T, Germeyer S, Schnapp A, Gantner F, Pieper M. Preclinical evaluation of long-acting muscarinic antagonists: comparison of tiotropium and investigational drugs. *J Pharmacol Exp Ther* 2009, 330:660-668.
12. Ulrik CS. Once-daily glycopyrronium bromide, a long-acting muscarinic antagonist, for chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review of clinical benefit. *International Journal of COPD* 2012;7 673-678.
13. Sykes DA, Dowling MR, Charlton SJ. Exploring the mechanism of agonist efficacy: a relationship between efficacy and agonist dissociation rate at the muscarinic M3 receptor. *Mol Pharmacol*. 2009;76:543-551.
14. Sechaud R, Ranard D, Zhang-Auberson L, de la Motte S, Drollmann A, Kaiser G. Pharmacokinetics of multiple inhaled NVA237 doses in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2012;50:118-128.
15. NVA Monograph (july 2012)
16. Verkindre C, Fukuchi Y, Flemale A, et al. Sustained 24-h efficacy of NVA237, a once-daily long-acting muscarinic antagonist, in COPD patients. *Respir Med*. 2010; 104:1482-1489.
17. Vogelmeier C, Verkindre C, Cheung D, et al. Safety and tolerability of NVA237, a once-daily long-acting muscarinic antagonist, in COPD patients. *Pulm Pharmacol Ther*. 2010; 23:438-444.
18. Fogarty C, Hattersley H, Di Scala L, Drollmann A. Bronchodilatory effects of NVA237, a once daily long-acting muscarinic antagonist, in COPD patients. *Respir Med*. 2011;105:337-342.
19. D'Urzu A, Ferguson GT, van Noord JA, et al. Efficacy and safety of once-daily NVA237 in patients with moderate to severe COPD: the GLOW1 trial. *Respir Res*. 2011; 12:156.
20. Kerwin E, Hebert J, Gallagher N, et al. Efficacy and safety of NVA237 versus placebo and tiotropium in patients with moderate-to-severe COPD over 52 weeks: The GLOW2 study. *Eur Respir J*. 2012 November; 40(5): 1106-1114.
21. Beeh KM, Singh D, Di Scala L, Drollmann A. Once-daily NVA237 improves exercise tolerance from the first dose in patients with COPD: the GLOW3 trial. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2012;7:503-13.
22. Van de Maele B, Fabbri LM, Martin C, Horton R, Dolker M, Overend T. Cardiovascular safety of QVA149, a combination of indacaterol and NVA237, in COPD patients. *COPD*. 2010; 7:418-427.
23. Singh S, Loke YK, Furberg CD. Inhaled anticholinergics and risk of major adverse cardiovascular events in patients with chronic obstructive pulmonary disease. A systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2008; 300:1439-1450.
24. Arievidh H, Overend T, Renard D, et al. A novel model-based approach for dose determination of glycopyrronium bromide in COPD. *BMC Pulmonary Medicine* 2012; 12:74.
25. Chapman KR, Fogarty CM, Peckitt C, et al. Delivery characteristics and patients' handling of two single-dose dry-powder inhalers used in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2011; 6:353-363.
26. Wieshammer S, Dreyhaupt J. Dry powder inhalers: which factors determine the frequency of handling errors? *Respiration*. 2008; 75(1): 18-25.
27. Buhl R, Banerji D. Profile of glycopyrronium for once-daily treatment of moderate-to-severe COPD. *International Journal of COPD* 2012;7 729-741.