

Paroksizmalna nočna hemoglobinurija – prve izkušnje zdravljenja z ekulizumabom pri slovenskih bolnikih

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria – first treatment experience with eculizumab in Slovenian patients

Irena Preložnik Zupan

Klinični oddelek
za hematologijo,
Univerzitetni klinični
center Ljubljana,
Zaloška 7, 1000 Ljubljana

Korespondenca/ Correspondence:

doc. dr. Irena Preložnik
Zupan, dr. med., Klinični
oddelek za hematologijo,
Univerzitetni klinični
center Ljubljana,
1000 Ljubljana
irena.zupan@kclj.si

Ključne besede:

paroksizmalna nočna
hemoglobinurija,
ekulizumab

Key words:

paroxysmal nocturnal
hemoglobinuria,
eculizumab

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2012;
81 supl 2: II-113–9

Prispelo: 8. maj 2012,
Sprejeto: 19. maj 2012

Izvleček

Izhodišča: Paroksizmalna nočna hemoglobinurija je oblika pridobljene hemolitične anemije zaradi napake v membrani eritrocitov ter tudi trombocitov in granulocitov. Značilno jo opredeljuje klasična triada kliničnih težav: (1) intravaskularna hemoliza, (2) venske tromboze in (3) odpoved kostnega mozga s citopenijo. Gre za napredovalo in življenje ogrožajočo bolezen, ki pogosto vodi v končno okvaro organov in prezgodnjo smrt. Do nedavno sta bili edini možnosti zdravljenja alogenična presaditev krvotvornih matičnih celic ali podporno zdravljenje s transfuzijami koncentriranih eritrocitov, z glukokortikoidi in antikoagulantni.

Prikaz primerov: *Prva bolnica* je zbolela pri 17 letih (l. 2000) zaradi aplastične anemije. Prejela je imunosupresivno zdravljenje z antitimocitnim globulinom, glukokortikoidi in s ciklosporinom. Po tem se je razvila PNH z naraščajočim klonom do 92 %. Parametri hemolize so bili zelo visoki (LDH do 82 μ kat/L, zvečan indirektni bilirubin, retikulociti $> 300 \times 10^9/L$). Postala je odvisna od transfuzij. Uvedli smo redno antikoagulantno zaščito in folno kislino. Junija 2011 smo pričeli zdravljenje z ekulizumabom v standardnem odmerku. Parametri hemolize so močno upadli, potreba po transfuzijah pa se je le delno zmanjšala. *Drugi bolnik* je zbolel s hudo pancitopenijo avgusta leta 2011. V kostnem mozgu so bili znaki hemolize. PNH klon je bil 65 %. Mesečno je potreboval transfuzije koncentriranih eritrocitov. Pogostejših okužb ali krvavitev ni imel. Parametri hemolize so bili zmerno povečani (LDH do 13,5 μ kat/L, bilirubin mejno povečan, retikulociti $95 \times 10^9/L$). Oktobra leta 2011 je pričel zdravljenje z ekulizumabom. Pancitopenija je vztrajala, tudi potreba po transfuzijah se ni zmanjšala, zato smo se odločili še za imunosupresivno zdravljenje. Čakamo na učinek imunosupresivnega zdravljenja in nadaljujemo zdravljenje z ekulizumabom.

Zaključki: Zdravljenje PNH je doživelo glavni napredek v zadnjih nekaj letih z razvojem monoklonskega protitelesa, usmerjenega proti C5 komplementa – ekulizumab. Zdravilo učinkovito zmanjša intravaskularno hemolizo, povzročno s komplementom, prepreči nastanek anemije in potrebo po transfuzijah. Pomembno zmanjša zaplete hemolize, kot so ledvična prizadetost in pljučna hipertenzija, zmanjša nastanek tromboembolizmov in podaljša preživetje bolnikov.

Abstract

Background: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria is a serious form of acquired haemolytic anaemia characterized by a defect in the membrane of red blood cells and also platelets and neutrophils. Clinically, it is typified by the classical triad of (1) intravascular haemolysis, (2) venous thrombosis and (3) bone marrow failure with cytopenia. As an advanced life threatening disease, it leads to end-organ failure and premature death. Until recently, the only treatment options were allogeneic stem-cell transplantation or supportive care with transfusions of packed red blood cells, glucocorticoids and anticoagulant therapy.

Case presentation: *The first patient* developed aplastic anemia at the age of 17 years (y. 2000). She received immunosuppressive therapy including anti-lymphocyte globulin, methylprednisolone and oral cyclosporine A. Some years after this treatment, increasing PNH clone up to 92 % evolved. Haemolysis parameters were very high (LDH to 82 μ kat/L, increased indirect bilirubin, reticulocyte count $> 300 \times 10^9/L$). She became dependent on red blood transfusions. Regular prophylaxis with warfarin and folic acid was introduced. In June 2011, we started eculizumab treatment by standard protocol. The parameters of haemolysis sharply decreased; the need for blood transfusions has decreased, though not

completely. *The second patient* presented with severe pancytopenia in August 2011. Bone marrow showed evidence of hemolysis. PNH clone was 65 %. He was not prone to infections or bleeding, but monthly he needed blood transfusions. Hemolysis parameters were moderately increased (LDH to 13,5 μ kat /L, bilirubin increased marginally, reticulocyte 95×10^9 /L). In October 2011, he started receiving eculizumab treatment. Pancytopenia persisted, he was still blood-transfusion dependent, and so we decided to start immunosuppressive therapy. At this time we await the effect of immunosuppressive therapy and continue the treatment with eculizumab.

Conclusions: In recent years, major progress has been made in PNH treatment with the development of monoclonal antibody directed against C5 protein of the complement system—eculizumab. Blockade of C5 effectively prevents intravascular haemolysis, development of anemia and reduces the need for blood transfusions. It significantly reduces complications such as haemolysis, renal impairment and pulmonary hypertension, reduces thrombosis-related complications and prolongs patients' survival.

Uvod

Paroksizmalna nočna hemoglobinurija (PNH) je oblika pridobljene hemolitične anemije zaradi napake v membrani eritrocitov ter tudi trombocitov in granulocitov.^{1,2} Čeprav jo splošno opredeljujemo kot hemolitično anemijo, gre za bolezen hematopoetične matične celice.^{1,3,4} Značilno jo opredeljuje klasična triada kliničnih težav: intravaskularna hemoliza, venske tromboze in odpoved kostnega mozga s citopenijo. Gre za napreduvalno in življenje ogrožajočo bolezen, ki pogosto vodi v končno okvaro organov in prezgodnjo smrt. 35 % bolnikov s PNH umre v obdobju 5 let od diagnoze. Glavni vzrok smrti so tromboze in ledvična odpoved. Približno polovica bolnikov ima težave s pljučno hipertenzijo. Bolezen se lahko pojavi pri kateri koli starosti, srednja starost pa je 30 let. Zaradi neznačilnih težav lahko bolezen dolgo ostane neodkrita.¹⁻⁴

Klon PNH celic izhaja iz hematopoetične matične celice, ki je pridobila somatsko mutacijo gena PIG-A na X kromosomu. Ta gen je potreben za sintezo glikozil fosfatidil inozitola (GPI), nosilca, ki pripenja nekatere beljakovine na celične membrane. Prizadete hčerinske celice (eritrociti, granulociti, monociti, limfociti in trombociti) nimajo nosilcev GPI in so zato odsotni določeni pomembni membranski proteini. Zlasti pomembni sta dve regulatorni beljakovini v eritrocitni membrani (CD55 in CD59), ki zavirata aktivacijo komplemента. Njuna odsotnost pripelje do intravaskularne he-

molize eritrocitov, ki jo povzroči aktiviranje komplemента, kar je tudi osnova bolezni.^{1,5} Najbolj občutljiva in specifična je preiskava s pretočnim citometrom, s katero ugotovimo pomanjkanje beljakovin na celični membrani.

Zdravljenje je odvisno od oblike bolezni in od prizadetosti bolnika. Mednarodna interesna skupina za PNH je na osnovi klinične slike bolezni, prizadetosti kostnega mozga in velikosti klona PNH predlagala razdelitev bolezni na tri podkategorije: (a) klasično, hemolitično obliko z velikim PNH klonom, nad 50 % populacije granulocitov, (b) PNH v povezavi z boleznijo kostnega mozga (običajno aplastična anemija ali mielodisplastični sindrom) in (c) subklinična PNH z majhnim klonom PNH.^{1,4} Pri klasičnih oblikah bolezni z vodečo hemolizo prihaja v poštev novo zdravilo, ki je na tržišču po letu 2007, in sicer monoklonsko protitelo, usmerjeno proti C5 beljakovini komplemента. Gre za zdravilo ekulizumab, ki učinkovito zmanjša oz. ustavi hemolizo, povzročeno s kompleментом, prepreči nastanek anemije in zmanjša potrebo po transfuzijah. Zdravilo pomembno zmanjša tudi zaplete hemolize, kot sta ledvična prizadetost in pljučna hipertenzija. Dokazano zmanjša incidenco trombotičnih zapletov. Simptomatsko pri bolnikih z anemijo dodajamo po potrebi železo, folno kislino, včasih so potrebne transfuzije eritrocitov. Pri klonu PNH preko 50 % se odločimo za zdravljenje z antikoagulantami. Pri obliki bolezni s prevladujočo odpovedjo kostnega mozga (aplastično anemijo ali

mielodisplastičnim sindromom) in klonom PNH, ki je običajno manjši od 50 %, se usmerimo v imunosupresivno zdravljenje. Če to ni učinkovito, se odločimo za presaditev krvotvornih matičnih celic.⁶⁻⁹ Subklinične oblike bolezni ne zdravimo.

V članku prikazujemo primer dveh bolnikov s PNH, ki ju zdravimo z ekulizumabom.

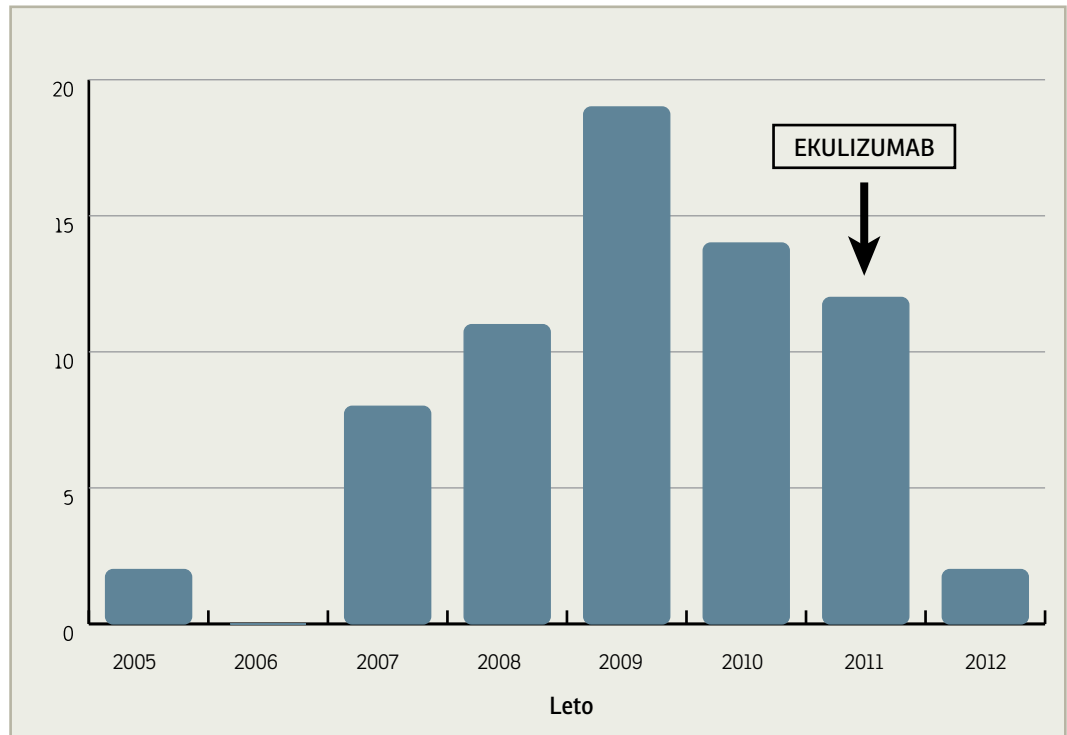
Prikaz primerov

Prva bolnica je zbolela pri 17 letih (leta 2000) s hudo aplastično anemijo (AA) in posledično pancitopenijo. Prejela je imunosupresivno zdravljenje z antitimocitnim globulinom, metilprednizolonom in s ciklosporinom. Krvna slika se je popravila. Po 4 letih (leta 2004) smo ob kontroli zaznali majhen klon PNH 10,3 %. V krvni sliki smo opazili bicitopenijo: levkociti $4,0 \times 10^9/L$, koncentracija hemoglobina (Hb) 118 g/L, povprečni volumen eritrocitov (PVE) 105 fl; trombociti $93 \times 10^9/L$, retikulociti $350 \times 10^9/L$, laktatna dehidrogenaza (LDH) 6,99 $\mu\text{kat}/L$, feritin 177 $\mu\text{g}/L$, ledvična funkcija je bila normalna, Coombsovi testi so bili negativni. Istega leta je opravila preventivno cepljenje proti virusu hepatitisa B, po cepljenju pa smo v nekaj mesecih opazili poglobljanje pancitopenije, zvečanje LDH na 10–20 $\mu\text{kat}/L$ in porast klona PNH na 35 %. Septembra 2005 smo ob pancitopeniji (L $3,1 \times 10^9/L$, Hb 86 g/L), trombociti $59 \times 10^9/L$, ponovno uvedli imunosupresivno zdravljenje samo s ciklosporinom. Prvič po letu 2000 je ponovno potrebovala transfuzije koncentriranih eritrocitov. Ob nekajmesečnem zdravljenju s ciklosporinom se je krvna slika ponovno stabilizirala. Leta 2007 so se pojavile bolečine v trebuhu in hemolitična epizoda. Znakov za trombozo nismo ugotavljali, UZ trebuha je bil v mejah normalnih vrednosti. Ponovili smo citološki in histološki pregled kostnega mozga, ki je ustrezal hemolitični anemiji brez znakov aplastične anemije. Klon PNH je bil 28 %, D-dimer 177, retikulociti $117 \times 10^9/L$ (5 %). Nadomestno je prejela vitamin B₁₂, folno kislino in ponovno potrebovala transfuzije koncentriranih eritrocitov. V letih 2008–2010 so se pomnožile hemolitične epizode, povečala se

je potreba po transfuzijah. Potrebovala je 2 enoti eritrocitov na 1–2 meseca. Ob porastu klona PNH preko 50 % smo uvedli antikoagulantno zdravljenje z varfarinom po priporočilih. V novembru leta 2010 je znašal PNH klon 92 %, LDH pa se je gibal med 50 in 70 $\mu\text{kat}/L$. Vložili smo prošnjo za uvedbo zdravljenja z monoklonskim protitelesom, ekulizumabom. Junija leta 2011 smo pričeli zdravljenje po protokolu. Ker zdravilo zavre delovanja komplementa, je pred zdravljenjem prejela štirivaletno meningokokno cepivo po priporočilih. Nadaljevala je tudi antikoagulantno zdravljenje z varfarinom in nadomestno folno kislino. Potreba po transfuzijah koncentriranih eritrocitov se je zmanjšala (Slika 1), vendar še vedno prihaja do hude hemolize enkrat na dva meseca. LDH je po pričakovanju močno upadel (Slika 2), ob zagonu hemolize na dva meseca pa opazamo ponovno blag porast LDH. Število retikulocitov ostaja visoko. Bolnica je sicer v dobri kondiciji in brez pridruženih bolezni. Do sedaj nikoli ni imela klinične slike trombotičnega dogajanja. Med ožjimi družinskimi člani nima primerne darovalca krvotvornih matičnih celic (KMC). Zaenkrat tudi ni navdušena nad presaditvijo KMC.

Drugi bolnik je zbolel v starosti 39 let s hudo pancitopenijo in z gnojnim vnetjem desnega ušesa. Več mesecev pred tem je opazil manjšo zmogljivost. Ob sprejemu avgusta leta 2011 so bili levkociti $2,0 \times 10^9/L$, koncentracija hemoglobina 62 g/L, PVE 111,6 fl in število trombocitov $34 \times 10^9/L$, število retikulocitov $95 \times 10^9/L$. V razmazu krvi ni bilo nezrelih celic. LDH 12,8 $\mu\text{kat}/L$, CRP 42 mg/L in ledvična funkcija so bili normalni. S punkcijo kostnega mozga smo ugotovili hipercelularni kostni mozeg na račun razrasti predvsem rdeče celične vrste z nakazanimi diseritropoetičnimi spremembami. Izsledke je še najbolj ustrezal anemiji zaradi hemolize oziroma možnosti refraktarne anemije. Coombsovi testi so bili negativni. Hemosiderin v urinu kot znak intracelularne hemolize je bil močno pozitiven. Določili smo še PNH-označevalce CD55 in CD59 na pretočnem citometru in ugotovili 65 % CD55 in CD59 negativnih nevtrofilnih granulocitov, med monociti je bilo negativnih 52 %, med eritrociti pa 7 %. Testi za oceno trombo-

Slika 1: Število enot koncentriranih eritrocitov po posameznih letih, ki jih je potrebovala prva bolnica.



filije so bili negativni. Anamnestično ni imel simptomov, ki bi nakazovali trombotično dogajanje v trebuhu ali drugje po telesu. Iz brisa sluhovoda smo osamili *Pseudomonas aeruginosa*, ki smo ga zdravili z ustreznim antibiotikom. Stanje se je hitro izboljšalo. Zaradi hude anemije v sklopu PNH smo bolnika zdravili simptomatsko s transfuzijami koncentriranih eritrocitov, preventivno pa je prejemal nizkomolekularni heparin. Redno je pričel prejemati še folno kislino zaradi povečane potrebe ob hemolizi.

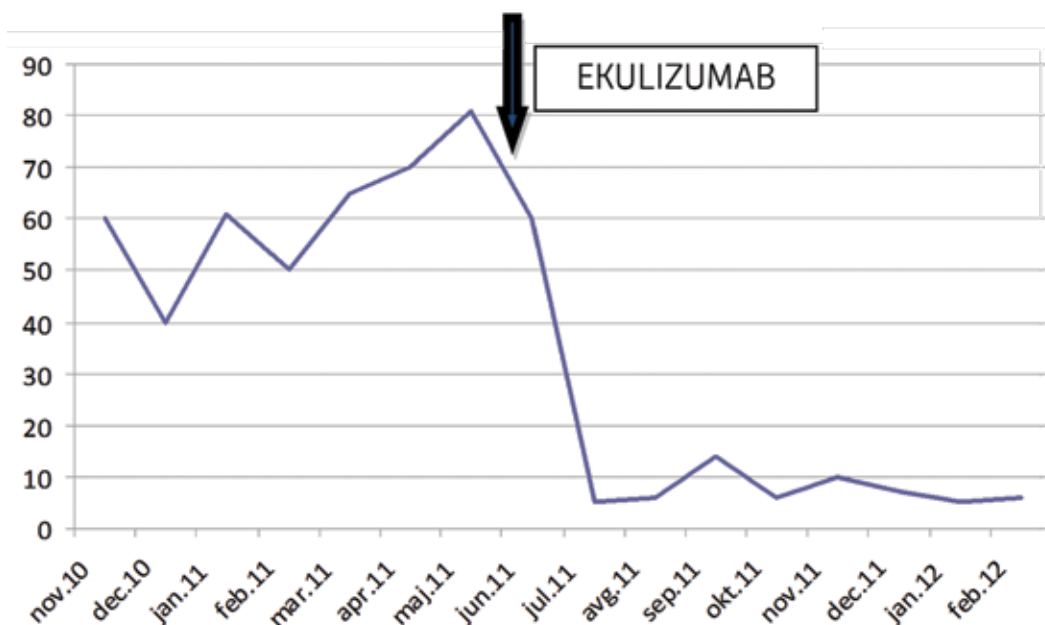
Konec oktobra leta 2011 smo zaradi visoke vrednosti klona PNH uvedli zdravljenje z ekulizumabom po protokolu. Pancitopenija se ne popravlja. Še naprej redno, tj. 1-krat mesečno, potrebuje transfuzije koncentriranih eritrocitov. Okužb ni imel. Glede na možnost refraktarne anemije smo se v januarju leta 2012 odločili za imunosupresivno zdravljenje z antitumocitnim globulinom, glukokortikoidi in s ciklosporinom. Nadaljevali smo tudi zdravljenje z ekulizumabom po protokolu. Opravili smo HLA tipizacijo svojcev, vendar nismo našli ustreznega darovalca krvotvornih matičnih celic. V postopku je iskanje nesorodnega darovalca KMC.

Razpravljanje

Klinične značilnosti PNH so v veliki meri odvisne od velikosti klona PNH, vendar pa ima pri izražanju bolezni pomemben vpliv tudi prizadetost kostnega mozga. Po podatkih iz literature imajo vsi bolniki s PNH znake prizadetosti kostnega mozga. Povezava med PNH in pridobljeno aplastično anemijo (AA) je znana že več kot 50 let.^{4,10}

Naša prva bolnica je pri 17 letih zbolela za AA. V tem času nimamo podatka o morebitni prisotnosti klona PNH. 4 leta po imunosupresivnem zdravljenju smo opažali majhen delež (10 %) CD55- in CD59- negativnih granulocitov, ki se je z leti stopnjeval do sedanjih 92 %. V vmesnem obdobju je prišlo ponovno do kratkotrajne pancitopenije, ki se je popravila po zdravljenju s ciklosporinom. Kontrolni pregled kostnega mozga je bil v skladu s hemolizo in brez znakov AA. Glede na potek bolezni in podatke iz literature sklepamo, da gre pri naši bolnici za tako imenovani PNH-AA sindrom, ki ima več obdobji. Na začetku kliničnega poteka bolezni nastopi huda AA, običajno več let, preden se pojavi PNH. Po več letih klinične slike PNH se lahko stanje ponovno zaključi s sliko AA.^{3,11} Dosedanji podatki kažejo, da imunska povzročena okvara kostnega

Slika 2: Vrednosti LDH v $\mu\text{kat/L}$ pred in po začetku zdravljenja z monoklonskim protitelesom proti CD5 komplementa, ekulizumabom, pri prvi bolnici.



mozga, povezana z AA, predstavlja ugodno okolje za razrast klona PNH, ki sam po sebi nima težnje rasti oziroma pomnoževanja, saj gre za popolnoma nemaligno proliferacijo. Pri specifični okvari kostnega mozga, ki je prisotna v pogojih AA, pa nastopi v določenih primerih pogojna razrast PIG-A mutirane hematopoetične matične celice. Gre za neke vrste selektivni pritisk imunskih procesov ob aplastični anemiji na mutirani klon PNH.^{3,4,12} V nekaterih primerih AA se pancitopenija popravi, ko PNH klon obsega 90 % in več celic, kar pomeni, da je bolnikova hematopoeza skoraj v celoti nadomeščena s klonom PNH. Normalna hematopoeza je torej še vedno nezadostna, kot je bila očitno v obdobju AA. V preteklosti so ocenjevali PNH kot zaplet imunosupresivnega zdravljenja AA.¹³ Vendar dokazov za tovrstno razlago nimamo. Lahko bi celo pomislili, da klon PNH bolniku z AA omogoča preživetje.³

V obdobju klinične slike klasične hemolitične oblike PNH z vsemi tipičnimi laboratorijskimi kazalci intravaskularne hemolize smo bolnico pričeli zdraviti z ekulizumabom. Opazovali smo takojšnje očitno zmanjšanje vrednosti LDH, zmanjšala se je tudi potreba po transfuzijah, vendar še vedno potrebuje na dva meseca eno do dve enoti krvi (Sliki 1,2). Dan ali dva pred naslednjim dajanjem ekulizumaba občasno prihaja do hemolize in hemoglobinurije, ki jo bolnica tudi zazna.

Pri takšnih bolnikih so v literaturi poskusili z dajanjem zdravila na krajši interval oziroma z večjim odmerkom na isti interval. S skrajševanjem intervala med dajanjem zdravila nismo dosegli želenega učinka. Redno smo preverjali tudi LDH, ki občasno pred naslednjo aplikacijo poraste, vendar brez očitnega pravila. Po literaturi se 50–60 % PNH-bolnikov ob zdravljenju z ekulizumabom na transfuzije ne odziva več, približno 15 % jih še vedno potrebuje transfuzije, pri 35 % bolnikih pa se potreba po transfuzijah zmanjša.^{3,4} Ob zdravljenju z ekulizumabom se zmanjšajo intravaskularna hemoliza in njene posledice (slabost, bolečine v trebuhu, ledvično popuščanje, tudi pljučna hipertenzija). Naša bolnica teh težav prej ni imela, zato jih nismo opazovali. Še vedno pa ima visoko število retikulocitov, kar je opisano tudi v literaturi, in to kljub delno učinkoviti blokadi komplementa in zmanjšanju intravaskularne hemolize. Ta ugotovitev je pripeljala do hipoteze, da bolniki, zdravljeni z ekulizumabom, razvijejo ekstravaskularno hemolizo zaradi opsonizacije eritrocitov z delci C3 komplementa, ki se nakopiči ob blokadi C5. Tako postanejo opsonizirani eritrociti tarča makrofagov. Coombsovi testi običajno postanejo pozitivni. Odgovor bolnika torej zavisi od ravnotežja med intravaskularno hemolizo pred zdravljenjem z ekulizumabom in ekstravaskularno hemolizo po zdravljenju z ekulizumabom.³

Zaenkrat ni pravila, kako postopati pri bolniku, ki ostaja odvisen od transfuzij. Poskusi z splenektomijo in glukokortikoidi niso bili uspešni. Trenutno priporočilo je, da počakamo ter spremljamo in po potrebi nadomeščamo eritrocite.³

Pri drugem bolniku smo ob odkritju bolezni ugotovili 65 % klon PNH na nevtrofilnih granulocitih, v kostnem mozgu pa znake hemolize in nakazane znake diseritropoeze. Laboratorijski parametri hemolize so bili zmerno povečani, v krvni sliki pa smo opazili hudo pancitopenijo. Sprva smo zdravili podporno, nato smo se odločili za uvedbo ekulizumaba, predvsem zaradi visokega deleža klona PNH in nevarnosti tromboz. Ker je huda pancitopenija vztrajala, smo se odločili za imunosupresivno zdravljenje. Nadaljujemo tudi zdravljenje z ekulizumabom.

Povezanost med PNH in mielodisplastičnim sindromom (MDS) je značilna za skupino MDS z majhnim tveganjem, kot sta refraktarna citopenija z enovrstno displazijo in refraktarna citopenija z večvrstno displazijo. V nekaterih študijah je prisotnost populacije PNH celic pri bolnikih z MDS povezana z relativno benignim potekom bolezni in veliko verjetnostjo uspešnega zdravljenja z imunosupresivnim zdravljenjem.⁴ Glede na opazovanje razrasti klona PNH pri AA in MDS raziskovalci hipotetično zaključujejo, da pojav klona PNH celic lahko služi kot označevalec imunsko pogojene okvare kostnega mozga in opredeli skupino bolnikov, ki bo uspešno odgovorila na imunosupresivno zdravljenje.^{3,4}

Zaključek

Poznavanje molekularne osnove PNH je omogočilo razvoj zdravljenja, ki mnogim bolnikom izboljša kakovost življenja, spremeni naravni potek bolezni in podaljša preživetje. Kljub uspehom zdravljenja so potrebna nadaljnja prizadevanja, da bi obvladali tudi ekstravaskularno hemolizo, ki omejuje učinkovitost ekulizumaba pri nekaterih bolnikih. Potrebno je tudi boljše razumevanje mehanizmov trombofilije, ki najbolj ogrožajo življenja bolnikov s PNH.

Za bolnike pa je seveda najbolj pomembno, da zdravniki to redko bolezen čim bolj

poznajo in bolezen zgodaj diagnosticirajo. To bolniku omogoči, da pride do ustreznega zdravljenja. Zato moramo biti pozorni in pomisliti na PNH ter opraviti ustrezno testiranje pri vsakem bolniku s Coombsovim testiranjem ugotovljeno negativno hemolitično anemijo, hemoglobinurijo, z mielodisplastičnim sindromom (predvsem skupina MDS z majhnim tveganjem), z aplastično anemijo, z nepojasnjeno citopenijo in nepojasnjeno trombozo (vensko ali arterijsko).

Literatura

1. Parker C, Omine M, Richards S, Nichimura J, Bessler MW, Ware R, et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2005; 106: 3699–709.
2. Wendell FR. Clinical manifestation of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. UpToDate Mar 2012. Dosegljivo na <http://www.uptodate.com/>.
3. Luzzatto L, Gianfaldoni G, Notaro R. Management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a personal view. *British J of Haematol* 2011; 153: 709–20.
4. Parker CJ. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Curr Opin Hematol* 2012. In press.
5. Wendell FR. Diagnosis and treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. UpToDate Mar 2012. Dosegljivo na http://www.uptodate.com.
6. Parker CJ. Management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the era of complement inhibitory therapy. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011; 2011: 21–9.
7. Luzzatto L, Risitano AM, Notaro R. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and aculizumab. *Haematologica* 2010; 95: 523–6.
8. Brodsky R. How I treat paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2009; 113: 6522–7.
9. Hill A, Richards SJ, Hillmen P. Recent developments in the understanding and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *British J of Haematol* 2007; 137: 181–92.
10. Dunn DE, Liu JM, Young NS. Bone marrow failure in PNH. In: *Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and the glycosylphosphatidylinositol-linked proteins*. San Diego: Academic Press; 2000. p. 113–38.
11. Rotoli B, Luzzatto L. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Seminars in Hematology* 1989; 26: 201–7.
12. Parker CJ. The pathophysiology of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Exp Hematol* 2007; 35: 523–33.
13. Socie G, Rosenfeld S, Frickhofen N, Gluckman E, Tichelli A. Late clonal diseases of treated aplastic anemia. *Seminars in Hematology* 2000; 37: 91–101.
14. Chuhjo T, Wang H, Yachie A, Omine M, Nakao S. Polyclonal hematopoiesis maintained in patients with bone marrow failure harboring a minor population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells. *Blood* 2003; 102: 1211–6.
15. Sugimori C, Chuhjo T, Feng X, Yamazaki H, Takami A, Teramura M, et al. Minor population of CD55-CD59- blood cells predicts response to immunosuppressive therapy and prognosis in patients with aplastic anemia. *Blood* 2006; 107: 1308–14.