

Ekulizumab u liječenju paroksizmalne noćne hemoglobinurije

Eculizumab in the treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

Zinaida Perić^{1*}, Klara Dubravčić², Sandra Bašić-Kinda¹, Nadira Duraković¹, Ana Boban¹,
Mirta Mikulić¹, Drago Batinić², Boris Labar¹

¹Zavod za hematologiju,
Klinika za unutarnje bolesti,
KBC Zagreb, Zagreb

²Zavod za imunologiju,
Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku,
KBC Zagreb, Zagreb

Primljeno: 23. 8. 2011.

Prihvaćeno: 27. 10. 2011.

Adresa za dopisivanje:

Zinaida Perić, dr. med.
Zavod za hematologiju,
Klinika za unutarnje bolesti, KBC Zagreb
Kišpatićeva 12, 10 000 Zagreb
e-mail: zina_peric@yahoo.com

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

Sažetak. Cilj: U radu je prikazan slučaj bolesnice s paroksizmalnim noćnom hemoglobinurijom, koja je liječena ekulizumabom, monoklonskim protutijelom koje inhibira komplement. **Prikaz slučaja:** U bolesnice, s otprije poznatom aplastičnom anemijom, postavljena je dijagnoza PNH-a nakon sumnje na trombozu moždanih vena. Znaci hemolitičke anemije javljaju se godinu dana kasnije. Na početku liječenja bila je prisutna teška hemoliza, anemija, trombocitopenija, te sekundarna hemokromatoza. Bolesnica je zahtijevala potpurnu terapiju transfuzijama eritrocita svaka 2 – 3 tjedna. U siječnju 2010. započeta je uvodna terapija ekulizumabom, koja je protekla bez značajnih nuspojava, a potom je nastavljena terapija održavanja tijekom 9 mjeseci. Nakon nekoliko tjedana intenzitet hemolize značajno se smanjio, uz gotovo potpuni nestanak umora i slabosti. Posljedično se smanjila potreba za transfuzijama. Sve je to značajno poboljšalo kvalitetu života bolesnice. **Rasprava i zaključak:** Sve donedavno, alogenična transplantacija koštane srži (alo-TKS), postupak nerijetko povezan s nizom komplikacija, bila je jedina terapijska mogućnost za liječenje PNH-a. Dvije prospektivne studije pokazale su da ekulizumab značajno smanjuje intravaskularnu hemolizu, potrebu za transfuzijama eritrocita, poboljšava kvalitetu života bolesnika, kao i da smanjuje rizik tromboze. Ove su se spoznaje potvrdile i kod naše bolesnice. Ipak, alo-TKS i dalje ostaje jedina terapija koja omogućuje izlječenje PNH-a, te je svakako treba razmatrati kao prvu terapijsku opciju kod mladih bolesnika, koji u podlozi PNH-a imaju drugi hipoproliferacijski poremećaj koštane srži.

Cljučne riječi: alo-TKS, ekulizumab, liječenje, PNH

Abstract. Aim: A case of a patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) treated with eculizumab, monoclonal antibody which blocks the complement is presented. **Case report:** A diagnosis of PNH was established in a young female patient with a previous history of aplastic anemia, after a thrombotic event in the CNS. Hemolysis started one year later and markedly progressed until the beginning of eculizumab treatment, when she had severe hemolysis, thrombocytopenia and anemia with need for blood transfusions every 2-3 weeks and secondary hemochromatosis. In January 2010, treatment with eculizumab was started. She received induction treatment without severe side-effects and continued with maintenance treatment for over 9 months. A significant decrease in hemolysis was observed which led to disappearance of symptoms and consequently the reduced need for transfusions. All this led to a dramatic improvement of her quality of life. **Discussion and conclusion:** Until recently, allogenic stem cell transplantation (allo-SCT), a therapeutic procedure linked with significant morbidity and mortality, was the only treatment for PNH. Two prospective studies have showed that eculizumab decreases intravascular hemolysis and the need for red cell transfusions, improves quality of life, and markedly decreases the risk for thrombosis. We confirmed these findings in our patient. However allo-SCT remains the only curative treatment of PNH and should still be considered as the preferred therapeutic option in young patients with an underlying bone marrow disorder.

Key words: allo-SCT, eculizumab, PNH, treatment

UVOD

Paroksizmalna noćna hemoglobinurija (PNH) rijetka je, stečena klonalna bolest krvotvornih matičnih stanica koja nastaje zbog somatske mutacije gena pig-A^{1,2}. Pig-A gen kontrolira sintezu glikozilfosfatidilinozitola (GPI). Ovaj se metabolit nalazi u membrani krvotvornih stanica, a služi za vezanje i održavanje najmanje 20 membranskih bjelančevina. Somatska mutacija pig-A gena ima za posljedicu djelomični ili potpuni nedostatak tih bjelančevina, ponajprije CD59 (membranski inhibitor reaktivne lize) i CD55 (faktor ubrzane razgradnje), zbog čega su te stanice preosjetljive na komplement i brzo se razgrađuju. Iako nedostaje velik broj bjelančevina na stanicama, kliničke osobitosti PNH-a ovise najviše o manjku CD59, bjelančevine koja regulira komplement.

Na PNH treba pomisliti u bolesnika sa znacima stečene hemolize i negativnim Coombsovim testom, u bolesnika s intravaskularnom hemolizom (hemoglobinemija, hemoglobinurija, hemosiderinurija, povećana aktivnost serumske laktat dehidrogenaze i smanjena razina serumskog haptoglobina). Također, često je prisutna granulocitopenija i trombocitopenija uz povećan broj retikulocita. Često se javljaju i venske tromboze, ponajprije abdominalnih vena (npr. Budd-Chiari sindrom, tromboza mezenterijalnih ili portalnih vena), te tromboza moždanih ili kožnih vena. Često je prisutna i aplastična anemija, te se može razviti sindrom mijelodisplazije, podtip refraktorna anemija. Uz to, kliničkom slikom mogu dominirati simptomi disfagije ili bol u trbuhu kao znak intravaskularne hemolize²⁻⁴.

Dijagnoza PNH-a postavlja se protočnom citometrijom, koja može vrlo objektivno procijeniti manjak bjelančevina vezanih na GPI⁵. Danas se rutinski određuje prisustvo CD59 i CD55.

Za razliku od normalne populacije stanica (PNH I stanice), na eritrocitima PNH-a ispitivane bjelančevine mogu u potpunosti nedostajati (PNH III stanica) ili, što je manje često, mogu pokazivati djelomičan manjak (posjeduju oko 10 % stanica s normalnom količinom bjelančevina, tzv. PNH II stanice). Neki bolesnici mogu imati obje populacije stanica⁶. Manjak bjelančevina može se određivati i na granulocitima, što je preciznije, jer se manje vrijedni eritrociti lizom razgrađuju u cirku-

laciji. To posebice vrijedi u bolesnika liječenih transfuzijama eritrocita.

Ekulizumab je humano monoklonsko protutijelo koje inhibira aktivaciju terminalnog komplementa na C5, te tako blokira, kako stvaranje anafilotoksina C5a, tako i kompleksa koji napada membranu C5b-9⁷. Na temelju dviju velikih multicentričnih kliničkih studija, pokazano je da ekulizumab smanjuje hemolizu i potrebu za transfuzijama, pa ga je 2008. odobrila Američka agencija za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration* – FDA) za

Paroksizmalna noćna hemoglobinurija je bolest matičnih krvotvornih stanica zbog somatske mutacije gena pig-A. Gen Pig-A kontrolira sintezu glikozilfosfatidilinozitola, koji se nalazi u membrani krvotvornih stanica. Na ovaj se spoj veže preko 20 membranskih bjelančevina.

Dijagnoza PNH-a postavlja se protočnom citometrijom koja može vrlo objektivno procijeniti manjak bjelančevina vezanih na GPI. Za dijagnozu je potrebno odrediti prisustvo CD59 i CD55 antigena na stanicama granulocita.

liječenje PNH-a^{8,9}. U Hrvatskoj se ovaj lijek nalazi na listi posebno skupih lijekova. Usto što smanjuje intravaskularnu hemolizu i potrebu za transfuzijama koncentrata eritrocita, ekulizumab poboljšava kvalitetu života i značajno smanjuje rizik tromboze¹⁰.

U ovom radu prikazana je bolesnica s PNH-om koja je liječena ekulizumabom.

PRIKAZ SLUČAJA

Bolesnica u dobi od 21 godine, s dotad neupadljivom obiteljskom i osobnom anamnezom, u rujnu 2009. dolazi na pregled i obradu zbog anemije i trombocitopenije. Obradom se utvrdi aplastična anemija, zbog čega se liječi kortikosteroidima. Zbog teških nuspojava, primjena kortikosteroida se prekida i u terapiju uvodi ciklosporin. Terapija ciklosporinom traje oko 3 godine. U prosincu 2005. bolesnica boravi u bolnici zbog tranzitorne ishemijske atake (TIA). Ova klinička slika pobudila je sumnju na PNH. Nalaz imunofenotipizacije periferne krvi dokazao je prisustvo populacije stanica PNH. Liječenje ciklosporinom se prekida (zbog moguće neurotoksičnosti), a liječenje je nastav-

lijeno suportivnim pristupom – transfuzijama eritrocita. Nakon godinu dana (u siječnju 2007.) klinički i laboratorijski znaci intravaskularne hemolize s hemoglobinurijom su i dalje prisutni, kao i trombocitopenija. U razdoblju koje je uslijedilo prisutan je trend sve jače hemolize (porast vrijednosti bilirubina na oko 70 $\mu\text{mol/L}$ (ref. vrijednosti 3 – 20 $\mu\text{mol/L}$), aktivnost enzima LD oko 6.000 (ref. vrijednosti < 241 U/L), retikulocita

Kliničkom slikom PNH-a dominira hemoliza. Bolesnici s PNH-om žive značajno kraće zbog brojnih komplikacija, ponajprije tromboembolija i oštećenja bubrega.

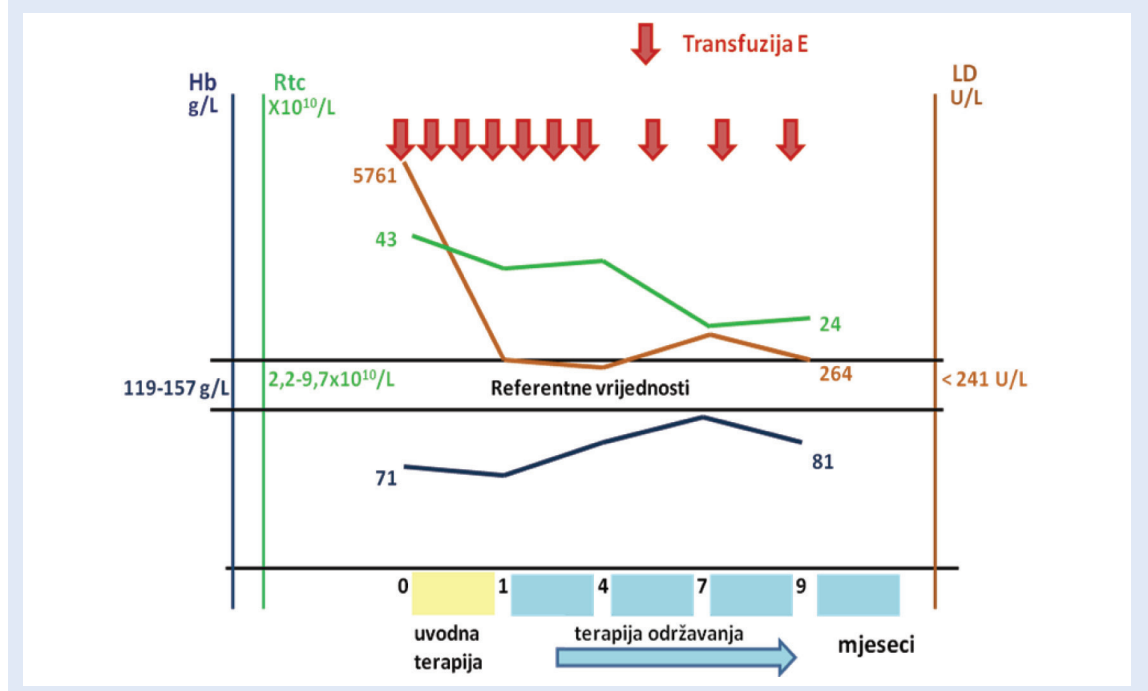
Ekulizumab je monoklonoalno protutijelo koje inhibira aktivaciju terminalnog komplementa, pa nema stvaranje anafilotoksina C5a i kompleksa koji napada membranu C5b-9. Na taj način blokira se hemoliza eritrocita.

43x10¹⁰/L (ref. vrijednosti 2,2 – 9,7x10¹⁰/L) koja uz istodobnu slabost funkcije koštane srži zahtijeva liječenje transfuzijama krvi. Bolesnica vrlo brzo postaje ovisna o transfuzijama eritrocita, koje prima svaka 2 – 3 tjedna, uz značajno smanjenje

kvalitete života (procjena općeg tjelesnog stanja oko 60 – 70 % prema Karnofskyjevoj ljestvici). S obzirom na sumnju na prethodnu trombozu moždanih vena, te trajno antikoagulanto liječenje i sliku aplastične anemije, u bolesnice je bilo indicirano liječenje alogeničnom transplantacijom koštane srži. Kako u obitelji nije nađen HLA-podudaran srodnik, predloženo je liječenje ekulizumabom. Prije početka liječenja bolesnica je primila cjepivo protiv *Neisseriae meningitidis*. Na mjestu cijepjenja razvija se teški celulitis s nekrozom koji se vrlo brzo proširio na čitavu lijevu nadlakticu. Mikrobiološki je dokazan *Pseudomonas aeruginosa*. Liječenje je provedeno s nekoliko linija antibiotika na temelju antibiograma, a zbog opsežne nekroze bolesnica je podvrgnuta rekonstruktivnim kirurškim zahvatima. Ishod infekcije završio je povoljno. Treba naglasiti da se zbog učestalih primjena transfuzija krvi razvila sekundarna hemokromatoza (koncentracije feritina u serumu su trajno bile veće od 4.000 $\mu\text{mol/L}$ (ref. vrijednosti 13 – 150 $\mu\text{g/L}$). Na sekundarnu hemosiderozu jetre ukazuju i nalazi aktivnosti jetrenih enzima u serumu (AST/ALT = 254/124 U/L; ref. vrijednosti AST 8 – 38 U/L, ALT 10-48 U/L). U siječnju 2009.

Slika 1. Vrijednosti hemoglobina, retikulocita, aktivnosti enzima LD i potrebe za transfuzijama u bolesnice s PNH-om tijekom uvodne terapije i terapije održavanja ekulizumabom (9 mjeseci).

Figure 1. The value of haemoglobin, reticulocytes, LD enzyme activity and the need for transfusions in the patient with PNH during induction treatment and the 9 months eculizumab treatment.



Tablica 1. Krvne pretrage kod bolesnice na početku liječenja, na kraju uvodnog liječenja i nakon 9 mjeseci liječenja
Table 1. Patient's blood tests at the beginning of treatment, at the end of induction treatment and after nine months of treatment

	* Vrijednost na početku liječenja	* Vrijednost na kraju uvodnog liječenja	* Vrijednost nakon 9 mjeseci liječenja
Hemoglobin (g/L)	71	67	81
Hematokrit (%)	24,1	21,5	26,0
Retikulocit ($\times 10^{10}/L$)	43,1	36,0	23,5
Leukociti ($\times 10^9/L$)	9,4	6,1	6,0
Trombociti ($\times 10^9/L$)	49	70	76
Kreatinin ($\mu\text{mol}/L$)	104	71	65
Bilirubin ($\mu\text{mol}/L$)	67	52	74
AST/ALT (U/L)	254/124	32/79	22/49
LD (U/L)	5761	284	264
Feritin ($\mu\text{g}/L$)	4160		2002

* referentne vrijednosti za žene; Hemoglobin: 119 – 157 g/L ; Hematokrit: 35,6 – 47,0 %; Retikulociti: 2,2 – 9,7 $\times 10^{10}/L$; Leukociti: 3,4 – 9,7 $\times 10^9/L$; Trombociti: 158 – 424 $\times 10^9/L$; Kreatinin: 63 – 107 $\mu\text{mol}/L$; Bilirubin: 3 – 20 $\mu\text{mol}/L$; AST: 8 – 38 U/L; ALT 10 – 48 U/L; LD: <241 U/L; Feritin: 13 – 150 $\mu\text{g}/L$;

započelo je istodobno liječenje s monoklonskim protutijelom ekulizumabom i kelatorom željeza desferasiroksom. Uvodna terapija ekulizumaba primijenjena je u standardnoj dozi od 600 mg jednom tjedno kroz 4 tjedna. Tijekom uvodne terapije zabilježena je, kao neželjena reakcija, blaža glavobolja. Nakon završetka uvodnog liječenja, laboratorijski nalazi ukazuju na smanjenje hemolize (pad koncentracije bilirubina (oko 50 $\mu\text{mol}/L$), značajno sniženje aktivnost enzima LD gotovo unutar referentnih vrijednosti (284 U/L) te sniženje broja retikulocita (36 $\times 10^{10}/L$) (tablica 1; slika 1).

Potreba za transfuzijama eritrocita ostala je ista. Nastavljena je terapija održavanja ekulizumabom u dozi od 900 mg svaka 2 tjedna, koja se primjenjuje oko 9 mjeseci. Također je nastavljena terapija desferasiroksom. Tijekom primjene terapije održavanja nisu opažene značajnije neželjene reakcije. Kod bolesnice se istodobno primjećuje značajno kliničko poboljšanje, te postaje sposobna za obavljanje svakodnevnih životnih aktivnosti, pa dolazi do značajnog poboljšanja općeg stanja.

Nakon 9 mjeseci terapije održavanja vrijednosti hemoglobina ne pokazuju značajniji porast (81 g/L), a laboratorijski parametri hemolize su tek naznačeni (LD unutar referentnih vrijednosti (264 U/L) uz još niže vrijednosti retikulocita (23,5 $\times 10^{10}/L$) (tablica 1; slika 1). Primjenom des-

ferasiroksa, značajno se smanjuje koncentracije feritina u krvi (od 4.000 na 2.002 $\mu\text{g}/L$), a aktivnost jetrenih enzima u serumu je unutar referentnih vrijednosti. (AST/ALT = 22/49 U/L) (tablica 1). Bolesnica postaje značajno manje ovisna o transfuzijama koncentrata eritrocita, i treba njihovu primjenu svakih 5 – 6 tjedana, umjesto svaka 2 – 3 tjedna (slika 1). Također se kod bolesnice prati značajno poboljšanje kvalitete života uz povratak svakodnevnim životnim aktivnostima. U bolesnice je nastavljena i dalje terapija održavanja ekulizumabom, kao i kelatorom željeza desferasiroksom.

RASPRAVA

Sve donedavno, alogenična je transplantacija koštane srži bila jedina metoda liječenja PNH-a. Ta je terapijska metoda, međutim, povezana s visokom stopom morbiditeta i mortaliteta. Liječenje ekulizumabom čini se da može djelotvorno kontrolirati komplikacije PNH-a (hemolizu i trombozu) i značajno poboljšavati kvalitetu života bolesnika koji boluju od ove bolesti, bez većih neželjenih reakcija^{8,9}. Liječenje nije ciljano, tj. usmjereno na uzrok bolesti, stoga mora biti doživotno ili dok se ne dogodi spontana remisija, što se opisuje kod dijela bolesnika s dovoljno dugim prirodnim tijekom bolesti³.

Ovo je prikaz našeg prvog iskustva liječenja mlade bolesnice oboljele od PNH-a ekulizumabom.

Uvodna terapija ovim lijekom, a potom i devetomjesečna terapija održavanja, protekla je bez značajnijih nuspojava.

Postignut je dobar odgovor – kontrola intravaskularne hemolize. Smanjena je potreba za liječenjem transfuzijama, ali još uvijek nije normalizirana vrijednost hemoglobina.

Anemija u PNH-a je složenog podrijetla, budući da često nastaje i zbog određenog stupnja aplazije koštane srži, pa hemoliza može biti samo dijelom uzrok anemije kod ovih bolesnika. Također, eritrociti kod bolesnika koji boluju od PNH-a su mozaik normalnih i promijenjenih stanica, a postotak stanica kojima nedostaje površinski biljeg CD 59 varira među bolesnicima^{11,12}. Također, u PNH-a postoje 3 populacije eritrocita, one s potpunim nedostatkom GFI-vezanog površinskog proteina, one s djelomičnim nedostatkom, te normalne stanice (obično se nazivaju redom PNH III, PNH II i PNH I stanice)^{6,12}. Zbog toga je, pri donošenju odluke o liječenju, važno procijeniti koliko je anemija kod pojedinog bolesnika posljedica hemolize, a koliko smanjene hematopoeze.

Kod naše je bolesnice hemoliza bila značajnog stupnja, ali je pritom bio prisutan i određen stupanj aplazije (niske vrijednosti trombocita), kao i sekundarna hematokromatoza.

Liječenje ekulizumabom dovelo je do značajnog smanjenja hemolize, reduciralo potrebu za transfuzijama, te, ono što je kod naše bolesnice najupečatljivije, dovelo do značajnog poboljšanja općeg stanja i kvalitete života, unatoč i dalje prisutnoj anemiji.

Naša zapažanja su u skladu s dosad objavljenim studijama koje opisuju značajno poboljšanje kvalitete života u bolesnika liječenih ekulizumabom¹³⁻¹⁵. Navedene su studije, naime, pokazale (koristeći EORTC-QLQC30 upitnik) poboljšanje u nekoliko QoL parametara, uključujući opće stanje, fizičko funkcioniranje, emocionalno funkcioniranje, kognitivno funkcioniranje, umor, dispneju i nesanicu. Zanimljivo je, također, da su se ova poboljšanja dogodila usprkos nepromijenjenim vrijednostima ukupnog hemoglobina. Ove se spoznaje objašnjavaju smanjenjem hemolize, nestankom simptoma koji potječu od hemolize, te posljedičnim smanjenjem potrebe za transfuzijama.

Uistinu, naša je bolesnica počela obavljati svakodnevne životne aktivnosti bez umaranja, te je sada u mogućnosti brinuti se za sebe. Pritom se bolje osjeća i psihički, te joj se vratila želja za povratkom na posao, kao i želja za zasnivanjem obitelji.

Ekulizumab je promijenio pristup liječenju PNH-a. Danas je ekulizumab lijek izbora kod bolesnika s izraženim simptomima koji potječu od izražene intravaskularne hemolize, a koji se ne mogu kontrolirati transfuzijama eritrocita (razina preporuke IA)¹⁶. Ipak, u skladu s objavljenim studijama o alogeničnoj transplantaciji u PNH-a, te usprkos značajnom morbiditetu i mortalitetu, ova metoda i dalje predstavlja jedinu kurativnu opciju. Pritom mijeloablativni pristup nije nužan za eradikaciju PNH klona¹⁷⁻²³. Zato alogenična transplantacija, kojoj prethodi manje toksično kondicioniranje reduciranog intenziteta, ostaje terapijska mogućnost za mlađe bolesnike, koji u kliničkoj slici imaju tešku pancitopeniju, osobito ako u obitelji imaju srodnog davatelja koštane srži, kao i kod bolesnika koji su refraktorni na liječenje ekulizumabom²⁴.

ZAKLJUČAK

Donedavno je alogenična transplantacije koštane srži bila jedina mogućnost za izlječenje bolesnika koji boluju od PNH-a, no radi se o terapijskom postupku koji u određenim okolnostima može biti povezan sa značajnim komplikacijama. Monoklonsko protutijelo ekulizumab je nov, siguran lijek, pogodan za bolesnike koji boluju od PNH-a s izraženom hemolizom i potrebom za transfuzijama. Prije početka liječenja ekulizumabom treba kod svakog bolesnika procijeniti koliko je anemija posljedica hemolize, a koliko u njoj podlozi stoji aplazija koštane srži. Mogućnost liječenja ovim lijekom treba razmotriti poznavajući spomenute parametre, budući da se radi o vrlo skupom i doživotnom liječenju. Alogenična transplantacija koštane srži i dalje ostaje terapija izbora za mlade bolesnike koji imaju izraženu aplaziju koštane srži, odnosno mijelodisplastični sindrom u podlozi PNH-a.

LITERATURA

1. Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: the physiology of complement-related hemolytic anemia. *Ann Intern Med* 2008;148:587-95.

2. Moyo VM, Mukhina GL, Garrett ES, Brodsky RA. Natural history of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria using modern diagnostic assays. *Br J Haematol* 2004;126:133-8.
3. Hillmen P, Lewis SM, Bessler M, Luzzatto L, Dacie JV. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 1995;333:1253-8.
4. Socie´ G, Mary JY, de Gramont A, Rio B, Leporrier M, Rose C et al. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: longterm follow-up and prognostic factors. *French Society of Haematology. Lancet* 1996;348:573-7.
5. 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.
6. Holguin MH, Wilcox LA, Bernshaw NJ, Rosse WF, Parker CJ. Relationship between the membrane inhibitor of reactive lysis and the erythrocyte phenotypes of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Clin Invest* 1989;84:1387-94.
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 Biotechnol* 2007;25:1256-64.
8. Hillmen P, Young NS, Schubert J, Brodsky RA, Socie´ G, Muus P et al. The complement inhibitor eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2006;355:1233-43.
9. Brodsky RA, Young NS, Antonioli E, Risitano AM, Schrenzenmeier H, Schubert J 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.
10. Hillmen P, Muus P, Duhren U, Risitano AM, Schubert J, Luzzatto L et al. Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2007;110:4123-8.
11. Rosse WF. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria—present status and future prospects. *West J Med* 1980;132:219-28.
12. Endo M, Ware RE, Vreeke TM, Singh SP, Howard TA, Tomita A et al. Molecular basis of the heterogeneity of expression of glycosylphosphatidylinositol anchored proteins in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 1996;87:2546-57.
13. Hillmen P, Hall C, Marsh JC, 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.
14. Hill A, Elebute M, Marsh JC, Richards SJ, McNutt B, Petro BE et al. Sustained control of hemolysis and symptoms and reduced transfusion requirements over a period of 2 years in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) with eculizumabtherapy (Abstract) *Blood* 2004;104:772a.
15. Hill A, Rother RP, Hillmen P. Improvement in the symptoms of smooth muscle dystonia during eculizumab therapy in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica* 2005;90:111-3.
16. Haspel RL, Hillmen P. Which patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) should be treated with eculizumab? ASH evidence-based review 2008. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008:35.
17. 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.
18. Antin JH, Ginsburg D, Smith BR, Nathan DG, Orkin SH, Rapoport JM. Bone marrow transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: eradication of the PNH clone and documentation of complete lymphohematopoietic engraftment. *Blood* 1985;66:1247-50.
19. Cho SG, Lim J, Kim Y, Eom HS, Jin CY, Han CW et al. Conditioning with high-dose cyclophosphamide may not be sufficient to provide a long-term remission of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria following syngeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2001;28:987-8.
20. Suenaga K, Kanda Y, Niiya H, Nakai K, Saito T, Saito A et al. Successful application of nonmyeloablative transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Exp Hematol* 2001;29:639-42.
21. Brodsky RA, Luznik L, Bolaños-Meade J, Leffell MS, Jones RJ, Fuchs EJ. Reduced intensity HLA-haploidentical BMT with post transplantation cyclophosphamide in nonmalignant hematologic diseases. *Bone Marrow Transplant* 2008;42:523-7.
22. de Latour RP, Mary JY, Salanoubat C, Terriou L, Etienne G, Mohty M et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: natural history of disease subcategories. *Blood* 2008;112:3099-106.
23. Santarone S, Bacigalupo A, Risitano AM, Tagliaferri E, Di Bartolomeo E, Iori AP et al. Hematopoietic stem cell transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: long-term results of a retrospective study on behalf of the Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO). *Haematologica* 2010;95:993-8.
24. Brodsky A. Stem cell transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica* 2010;95:855-6.