

# HEMOGLOBINURIA PAROXISTICA NOCTURNA

## Estudio clínico sobre cinco casos

JORGE F. CASTILLO A  
AUGUSTA M. ROJAS  
ALIPIO JERI  
EDDA H. de AGUAYO

**RESUMEN:** *Se han estudiado cinco casos de hemoglobinuria paroxística nocturna. En cuatro de ellos la enfermedad se manifiesta en su forma clásica y en uno se muestra más como "defecto" que como enfermedad. Todos nuestros pacientes se presentaron con anemia al inicio de su enfermedad, tres con leucopenia y dos con trombocitopenia. Ningún paciente recibió tratamiento a base de hierro, tres pacientes recibieron terapia androgénica siendo sólo uno de ellos beneficiado. Dos pacientes recibieron tratamiento con esteroides sin ningún beneficio.*

**SUMMARY:** *It has been studied five cases of P.N.H. In four of them the disease presented in its classical form; one of them showed more PNH "defect" than disease. In all our patients at the time of diagnosis was found anemia; in three leukopenia and in two thrombocytopenia. None of them was treated with iron; three patients were treated with androgens being only one of them benefited. Two patients were given adrenal steroids without any evidence of improvement.*

**INTRODUCCION:** La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) es un cuadro hematológico muy raro; su incidencia ha sido calculada en 0.0002% (1) y es debida a un trastorno eritrocitario hasta el momento de naturaleza no precisada (2), el cual en su forma clásica se expresa como hemólisis intravascular crónica con hematuria y periódicas crisis hemolíticas que se presentan ocasionalmente durante el sueño (3).

---

\* Médicos del Servicio de Hematología del Hospital Central N° 2 del Seguro Social del Perú (Ex-Epleado).

**RECONOCIMIENTO:** Agradecemos al Dr. Norberto Quesada V., la gentileza que tuvo al proporcionarnos la historia clínica del caso N° 5 del presente estudio.

Desde su original descripción por Marchiafava y Nazzari en 1911 (4), hasta la fecha, la patogenia de la enfermedad ha sido en parte comprendida al demostrarse anomalías en la célula roja de pacientes con HPN que se consideran características de esta enfermedad y éstas son: marcada susceptibilidad a hemólisis en presencia de complemento (5) y niveles bajos de acetilcolinesterasa (6). Intentos de explicar el defecto celular en base a alteraciones de los lípidos de la membrana del hematíe o anomalías en el estudio del mismo al microscopio electrónico han arrojado conflictivos resultados (7).

El diagnóstico está basado en la positividad de la prueba de Ham o de lisis de glóbulos rojos del paciente en presencia de suero acidificado (8), aunque toda prueba de Ham positiva no es sinónimo de HPN pues, ha sido también descrita como positiva en casos de anemia disritropoyética congénita tipo II (HEMPAS) (9) y mielofibrosis (10).

El concepto de HPN como enfermedad ha sido ampliado y actualmente se le puede considerar un síndrome; fue propuesto a ser incluido como síndrome mieloproliferativo por Dameshek en 1967 (11) y es conocido que puede ser estadio intermedio de cuadros de anemia aplásica (12) o leucemia aguda (13).

Revisando la estadística de Lewis et al. (14), se muestran aparente que HPN es un epónimo que representa un amplio espectro de síndromes clínicos; en un extremo estaría su forma clásica de presentación; en el otro —y en esto hay variaciones graduales— se presenta como HPN "defecto", con un cuadro prácticamente subclínico donde el diagnóstico es sugerido por persistente leucopenia, cuadros de trombosis inexplicables o púrpura trombocitopénica (14).

Creemos de interés presentar el cuadro clínico de 5 pacientes con HPN; 4 de ellos con la enfermedad en su forma clásica y uno de ellos con más "defecto" que enfermedad.

### CASOS CLINICOS:

**CASO 1** — N.P.W. c.s.s. N° 177-00116; varón de 26 años, acude por primera vez al HC N° 2 en marzo de 1970 por presentar astenia marcada y notar la presencia de orinas oscuras por aproximadamente un mes.

El examen clínico sólo descubre palidez de piel y mucosas. Los exámenes auxiliares mostraron: hemoglobina 5.7 g/100 ml., hematocrito 18<sup>o</sup>/o, leucocitos 3,400/mmc, reticulocitos 2.9<sup>o</sup>/o y plaquetas 120,000/mmc. La fórmula diferencial leucocitaria fue: neutrófilos 35<sup>o</sup>/o, eosinófilos 2<sup>o</sup>/o, monocitos 6<sup>o</sup>/o y linfocitos 57<sup>o</sup>/o. La bilirrubina total 1.42 mg.<sup>o</sup>/o con 0.80 mg.<sup>o</sup>/o de fracción directa; el dosaje de proteínas totales, SGOT, SGPT, y fosf. alcalina estuvo dentro de límites normales. El examen de la médula ósea mostró hipocelularidad siendo ésta más marcada a la serie mieloide y moderada a la eritroide y megacariocítica. La prueba de Coombs directa fue negativa. En esa oportunidad no se realizó la prueba de Ham. El paciente fue empezado en terapia a base de andrógenos, Prednisona y transfusiones periódicas.

En marzo de 1972 su condición clínica y hematológica permanecía estable, el único cambio ostensible se apreciaba en la médula ósea la cual se mostraba marcadamente hiper celular a predominio eritroide. La prueba de Ham practicada en esa ocasión fue positiva, así como la investigación de hemosiderina en orina. Se le continuó en la misma terapia androgénica a base de mesterolona en dosis de 150 mg./día.

En setiembre de 1974, 54 meses después de comenzada su enfermedad, su hemoglobina era de 6.10 g/100 ml., hematocrito 22<sup>o</sup>/o, leucocitos 4,700/mmc, reticulocitos 2.2<sup>o</sup>/o y plaquetas 60,000/mmc. La médula ósea básicamente no había cambiado y se mostraba deficiente en hierro. La prueba de Ham y la hemosiderinuria permanecen positivos. Desde hace cuatro meses se encuentra en terapia con oxymetholona 200 mg./día sin que hasta la fecha —enero 1975— haya respuesta aparente.

**CASO 2 — T. A. J. css N° 164-259775;** varón de 36 años, empieza su enfermedad en forma brusca en junio de 1968 con dolor en hipocondrio derecho, orinas oscuras y anemia. El examen clínico fue negativo excepto marcada palidez de piel y mucosas. El hemograma mostraba: hemoglobina 6.8 g/100 ml., hematocrito 22<sup>o</sup>/o, leucocitos 3,500/mmc, reticulocitos 10.2<sup>o</sup>/o y plaquetas 200,000/mmc. El examen de médula ósea mostraba sólo intensa hiperplasia eritroide. La prueba de Coombs directa así como la investigación de crioaglutininas fue negativo. La prueba de Ham fue positiva al igual que la investigación de hemosiderina en orina. El resto de exámenes bioquímicos mostraban SGOT de 370 mU y bilirrubina total de 1.82 mg.<sup>o</sup>/o a predominio directo. SGPT, proteínas totales, fosf. alcalina, úrea, glucosa y colesterol dentro de límites normales.

El tratamiento se empezó a base de transfusiones de glóbulos rojos lavados, expansores plasmáticos y andrógenos, lográndose ligera mejoría del cuadro clínico. Hasta diciembre de 1973 había tenido 10 admisiones al hospital por problemas de anemia o de infección, habiendo estado durante todo ese tiempo en terapia más o menos continua con andrógenos —Mesterolona—. En esa

fecha su hemoglobina era 3.6 g/100 ml., hematocrito 17<sup>o</sup>/o, leucocitos 3,500/mmc., reticulocitos 4.4<sup>o</sup>/o y plaquetas 230,000/mmc. La médula ósea no mostraba cambios con respecto a la original. Fue transfundido y salió de alta mejorado. Desde esa fecha no ha regresado a la consulta.

**CASO 3 — C. C. A., css N° 164-386290;** mujer de 44 años, admitida por primera vez en junio de 1974 por presentar ictericia, orinas oscuras, menorragias y dolor en ambas regiones costo lumbares de aproximadamente 7 días de evolución. Refería que pocos días antes que el actual episodio empezara había ingerido pirazonas —Antalgina— y recuerda que en pasadas oportunidades cada vez que ingería Antalgina le ocurría lo mismo pero de menor severidad. No había historia de alergia o hipersensibilidad a drogas en ningún otro miembro de la familia. El examen clínico sólo mostraba palidez e ictericia de piel y mucosas. El hemograma revela: hemoglobina 3.4 g/100 ml., hematocrito 12<sup>o</sup>/o, leucocitos 5,600/mmc, reticulocitos 5.5<sup>o</sup>/o y plaquetas 220,000/mmc. La fórmula diferencial leucocitaria no mostraba ninguna anormalidad. La médula ósea mostró hiper celularidad a expensas de la serie eritroide, la maduración de la misma era normoblástica y no había hierro tingible.

Las pruebas de Coombs y Donath-Landsteiner fueron negativas. La prueba de Ham y la investigación de hemosiderina en orina fueron encontradas positivas. El resto de exámenes auxiliares mostró bilirrubina total de 6.04 mg.<sup>o</sup>/o a predominio indirecto, SGOT 237 mU/1, SGPT 190 mU/1, fosfatasa alcalina 120 mU/1, proteínas totales, glucosa y úrea estuvieron dentro de límites normales.

La paciente fue tratada con Dextrán y transfusiones de glóbulos rojos lavados sin lograrse mejoría del cuadro hemolítico durante los primeros dos días. Posteriormente se discontinuó el Dextrán y se transfundió glóbulos rojos hasta alcanzar un hematocrito normal con lo cual se obtuvo completa regresión de los síntomas y signos clínicos.

En setiembre del mismo año se le encontró completa normalidad en el hemograma. En noviembre y sin mediar ingesta de droga alguna vuelve a presentar el cuadro de hemólisis severa el cual requiere para ser controlado numerosas transfusiones de glóbulos rojos lavados.

Desde esta oportunidad hasta enero de 1975 presenta hemólisis prácticamente continua con marcada hemoglobinuria por la cual debe ser transfundida en forma periódica. No ha recibido tratamiento alguno, otro que transfusiones de glóbulos rojos lavados.

**CASO 4 — J. W. Y. css N° 164-386290;** mujer de 44 años, asiática, inicia su enfermedad aparentemente en 1964 cuando fue diagnosticada en otro hospital como portadora de un cuadro de anemia hemolítica autoinmune y tratada con esteroides con remisión moderada

de su enfermedad. En setiembre de 1972 es admitida por primera vez al HC N°2 con un cuadro de fiebre y derrame pleural izquierdo. En esa oportunidad se encontró: hemoglobina 8 g/100 ml., hematocrito 27<sup>o</sup>/o, leucocitos 5,000 mmc, reticulocitos 2.2<sup>o</sup>/o y plaquetas 55,000/mmc. La fórmula diferencial leucocitaria estaba dentro de límites normales.

La médula ósea mostraba sólo hiperplasia eritroide. La prueba de Coombs directa fue positiva; la investigación de anticuerpos antinucleares (A.N.A.) y células L. E. fueron negativos. La úrea, glucosa, fosfatasa alcalina, SGOT, SGPT, y bilirrubina total estuvieron dentro de límites normales. No se aisló bacilo ácido resistente.

Recibió tratamiento a base de prednisona y tuberculostáticos con alivio de su cuadro. Durante el tiempo que duró su admisión en el hospital presentó un cuadro de trombosis de vena femoral lo cual hizo necesario su tratamiento con heparina y posteriormente coumarínicos. Fue dada de alta con el diagnóstico provisional de citopenia autoinmune.

Desde esa oportunidad hasta julio 1974 el cuadro hematológico ha sufrido notable variación con dosajes de hemoglobina que fluctúan entre 4.6 y 9 g/100 ml., y recuento de reticulocitos de 1.5 a 15<sup>o</sup>/o. Se le ha mantenido en dosis bajas de coumarínicos y prednisona. En julio de 1974 se hospitaliza nuevamente por cuadro respiratorio agudo de naturaleza infecciosa y severa trombocitopenia. El hemograma mostraba: hemoglobina 11.3 g/100 ml., hematocrito 37<sup>o</sup>/o, leucocitos 5,300/mmc, reticulocitos 1.8<sup>o</sup> y plaquetas 6,000/mmc. El examen clínico a más de los hallazgos respiratorios mostraba secuelas post trombóticas en pierna derecha, petequias diseminadas y cicatriz de lesión herpética en la parte posterior del tórax.

La prueba de Coombs persistía positiva, la médula ósea mostraba ligera hiperplasia eritroide, la prueba de Ham fue positiva, la investigación de hemosiderina en orina fue negativa. Fue tratada con antibióticos con pronto alivio del cuadro. Los varios controles que ha tenido a posterioridad en consultorio externo muestran normalidad de la hemoglobina persistiendo sólo una marcada trombocitopenia y la prueba de Coombs directa positiva. No ha recibido nunca terapia androgénica.

CASO 5 — J. J. F. C., N° 0066 Hospital 2 de Mayo. Varón de 39 años de edad, inicia su enfermedad aparentemente en 1968 cuando presenta síntomas dependientes de anemias y orinas que lucían como "Coca Cola" característicamente sólo en las mañanas siendo claras el resto del día. Por esta razón es admitido en un hospital castrense donde sólo se le administran transfusiones de sangre p.r.n. Esta condición se mantiene en forma más o menos crónica hasta febrero de 1973 cuando es transferido al Hospital 2 de Mayo para ser reevaluado. El examen clínico fue negativo, la hemoglobina 6.6 g/100 ml., hematocrito 20<sup>o</sup>/o, reticulocitos 1.8<sup>o</sup>/o, leucocitos 2,500/mmc y plaquetas

180,000/mmc.

La fórmula diferencial leucocitaria mostraba linfocitosis relativa de 83<sup>o</sup>/o, 15<sup>o</sup>/o de formas neutrófilas, 1 monocito y 1 eosinófilo. El examen de la médula ósea muestra marcada hiperplasia eritroide de tipo normoblástico y ausencia de hemosiderina. La prueba de Ham y la investigación de hemosiderina en orina fueron positivas. La glucosa, úrea, SGOT, SGPT, fosfat. alcalina y proteínas totales se encontraron dentro de límites normales. El paciente fue tratado con Primobolan I. M. administrado interdiario. En setiembre del mismo año se le encontró hemoglobina 13g/100 ml., hematocrito 40<sup>o</sup>/o, reticulocitos 1<sup>o</sup>/o, leucocitos 5,400/mmc y plaquetas 180,000/mmc. La fórmula diferencial mostraba 40<sup>o</sup>/o de neutrófilos, 43<sup>o</sup>/o de linfocitos, 13<sup>o</sup>/o de monocitos, 2<sup>o</sup>/o de eosinófilos y 2<sup>o</sup>/o de basófilos. Se le indicó la misma terapia pero en dosis semanales; hasta la fecha no ha regresado a consulta.

DISCUSION: La presente serie comprende cinco pacientes con el diagnóstico de H. P. N.

Aunque la enfermedad en su forma clásica de presentación acusa incidencia muy baja, el "defecto" puede ser más común de lo que originalmente se pensó; la razón para ello podría ser que en años recientes la H.P.N. ha sido buscada y encontrada en pacientes en quienes no encuadra el diagnóstico original de la enfermedad.

La asociación entre H.P.N. y pancitopenia ya ha sido anteriormente revisada; la experiencia de Dacie y Lewis (15) sobre sesenta pacientes estudiados hasta el año 1961, todos ellos portadores de H.P.N., revela que diecisiete se presentaron con trombocitopenia sola; veintitrés con neutropenia y por lo menos quince pacientes tenían el diagnóstico de anemia aplásica hecho originalmente; en nuestra serie, tres pacientes se presentaron inicialmente con leucopenia (casos 1,2,5), dos con trombocitopenia (casos 1, 4), y todos presentaban anemia al tiempo del diagnóstico. En uno de ellos el diagnóstico original fue anemia hipoplásica (caso 1).

Desde otro punto de vista, los mismos autores han realizado la prueba de Ham en cuarentiseis pacientes diagnosticados como portadores de anemia aplásica y encontraron en siete de ellos (15<sup>o</sup>/o) positividad del mismo; dos de éstos desarrollaron más tarde el cuadro clásico de H.P.N., dos murieron con hipoplasia medular y tres presentan hasta el momento del informe severa hemólisis.

Como ya ha sido descrito, la cuenta de reticulocitos en pacientes con H.P.N. es comparativamente menor al grado de Hemoglobina presente que en otros cuadros de anemia hemolítica (1); en nuestra serie los casos 1, 3, 4 y 5 mostraron al tiempo del diagnóstico un índice reticulocitario menor de 3; no es claro todavía si esto se deba a eritroblastopenia sola o a un cuadro de eritropoyesis ineficaz; en relación a esto último es factible especular —sobre todo en aquellos casos precedidos por aplasia— que se establezca una mutación somática cuan-

do la regeneración hemopoyética ocurre a expensas de un "clon" de hemocitoblastos anormales los cuales son sensibles a sufrir destrucción intramedular (16).

Probablemente algo parecido pueda decirse con respecto a la leucopoyesis; en la anemia aplásica se encuentran valores altos de fosfatasa alcalina intraleucocitaria mientras en la H.P.N. estos se encuentran muy bajos o ausentes, lo cual sugeriría un defecto en la maduración leucocitaria neutrófila que podría tener su origen en estadios primitivos (17).

La trombocitopenia notada en esta enfermedad aparentemente no está relacionada con destrucción incrementada de las plaquetas; a pesar de la casi constante hemólisis en algunos casos reportados, el T/2 de vida plaquetario no se encuentra acortado ni existe evidencia de dos tipos de población plaquetaria (7).

Parece existir relación entre períodos de acentuada hemólisis y fenómenos trombóticos y varios mecanismos se han propuesto para ello; uno estaría relacionado con una alteración en la membrana de la plaqueta que la haría más susceptible de agregarse en presencia de material tromboplástico liberado por la destrucción de hematíes circulantes (7); el otro sería aumento en la actividad de factores V y VIII principalmente, el cual no es claro si es real o se deba a la presencia de aceleradores plasmáticos inespecíficos del proceso de la coagulación los cuales ejercen su efecto en el sistema de pruebas empleadas en el dosaje de los factores arriba mencionados (18).

Nuestro caso número 4 es el único que presentó compromiso trombótico y en el cual al tiempo de este informe las únicas anomalías hematológicas residen en la marcada trombocitopenia que todavía persiste y la prueba de Ham positiva. Esta paciente se encuentra mantenida con dosis bajas de Coumadín sin hasta la fecha haber presentado recidiva del proceso trombótico.

En todos nuestros casos el diagnóstico se confirmó por la prueba de Ham, la que hemos establecido como rutina en nuestro Servicio de Hematología en todo paciente que presenta leucopenia inexplicable, trombocitopenia, anemia hemolítica; reacciones transfusionales a repetición o cuadro de anemia aplásica.

Otras pruebas como la de sucrosa (19) o la de inulina (20) no han sido practicadas puesto que aún cuando son consideradas quizás más sensitivas que la prueba de Ham, son menos específicas para realizar el diagnóstico de H.P.N.

Nuestro caso número 3 es de particular interés; las crisis hemolíticas se desencadenaban a la ingesta de pirazolonas (Antalgina) inicialmente. Es conocido que hematíes normales expuestos a altas concentraciones de cisteína o AET (2-bromuro de ethylisothiuronium), que se piensa actúan oxidando grupos S-H del estroma del hematíe, hacen que en algunas ocasiones estos se comporten como si fueran hematíes de H.P.N. (21).

Sirchia demostró que esta anomalía in vitro se debía a que células así tratadas aumentaban grande-

mente su sensibilidad a ser destruidas por completo (22).

Aunque defectos in vivo de esta naturaleza a nuestro conocimiento no han sido descritos, pensamos originalmente que quizá la droga ingerida de algún modo podría causar esta alteración in vivo e invitro. Posteriormente, la evolución de la paciente que persistía hemolizando activamente sin haber relación con la ingesta de ningún tipo de droga, asociada a marcada anemia, hemosiderinuria y prueba de Ham positiva confirmaron el diagnóstico de H.P.N.

Hasta el momento parece no existir bases inmunológicas en la patogenia de la H.P.N., sin embargo la prueba de Coombs directa es encontrada positiva más frecuentemente en la H.....P.N. que si sólo fuera simple coincidencia y por lo general ha sido de carácter transitorio (23). Podría ser que en algunos casos donde existe hemólisis severa con pérdida de hierro por la orina, la transferrina que usualmente se encuentra elevada en casos de anemia ferropénica se adose firmemente a la membrana del hematíe y de esta manera producir una prueba de Coombs directa positiva; aunque ello también ha sido descrito en pacientes con baja cuenta reticulocitaria y moderada anemia, lo cual hace improbable el mecanismo propuesto (23).

En nuestro caso número 4 no es clara la secuencia de eventos que conducen al cuadro actual; si bien es cierto que el diagnóstico es confirmado en el laboratorio por una prueba Ham positiva y clínicamente por el cuadro de trombosis venosa que presentó, la trombocitopenia y la prueba de Coombs positiva persistente podría también relacionarse con un cuadro autoinmune y no sólo con el "defecto" H.P.N. Creemos que la evolución natural de la enfermedad en esta paciente aclare en algo la patogenia del proceso a posteriori. Aún cuando no existe tratamiento específico para el defecto intraeritrocitario que ocasiona la enfermedad, algunos aspectos de la misma sí pueden ser mejorados usando ciertas formas de terapia.

La administración de hierro y andrógenos han dado resultados poco uniformes y esto es debido a que ambos pueden —por mecanismos diferentes— estimular la producción de células que va a sufrir lisis por acción del complemento.

En la serie de Hartmann y colaboradores (24) compuesta de seis pacientes, cinco de ellos presentan hematuria severa una vez instaurada la terapia a base de hierro, sólo uno de ellos mejoró su anemia sin incrementar la hemólisis; en la serie de Hansen (23), dos de cinco pacientes respondieron adecuadamente a la terapia férrica. En nuestro grupo ningún paciente ha recibido suplemento de hierro oral o parenteral.

La administración de andrógenos en algunos casos produce efecto benéfico; Hartmann y cols. reportan que cinco de sus seis pacientes encontraron mejoría del problema anémico cuando este tipo de terapia fue usada (24); Hansen y cols. encuentran que este tipo de terapia

beneficia sólo uno de cuatro pacientes (23).

En nuestra serie los casos 1 y 2 no muestran ningún beneficio a la terapia androgénica en los cuales fue usada por más de seis meses; el caso número 5 mostró prácticamente remisión del proceso sin mostrar ninguna evidencia de incremento de hemólisis.

El tratamiento con corticoesteroides es probablemente de menor valor terapéutico que el tratamiento con andrógenos y hierro en la H.P.N. y su efecto de corta duración (23); en nuestra serie sólo los casos números 1 y 4 recibieron esta modalidad terapéutica y aparentemente sin ningún beneficio.

Aunque el uso de Dextrán ha sido advocated como efectivo coadyuvante en el control de las crisis hemolíticas en pacientes con H.P.N. por la supuesta acción que tendría fijando complemento sérico (25), actualmente su uso es muy limitado. El efecto del mismo es de muy corta duración, puede ocasionar anafilaxia y producir

alteraciones severas del mecanismo de la coagulación (26).

De los casos que reportamos dos se presentaron en lo que llamaríamos crisis hemolítica (casos 2 y 3) caracterizada por severa anemia, marcada hemoglobinuria y dolor lumbar bilateral que en un momento nos hizo temer por la integridad de la función renal de los pacientes, como ya ha sido previamente descrito (27).

En estos pacientes usamos Dextrán y su efecto durante los días en los cuales los pacientes recibieron esta terapia fue prácticamente nulo. Si bien es cierto que dos pacientes no permite sacar ninguna conclusión sobre la bondad de determinado tipo de tratamiento, creemos que a la fecha el mejor tratamiento de la crisis hemolítica es la hipertransfusión usando glóbulos rojos lavados. Con esto se lograría suprimir la producción de células sensitivas a la acción del complemento suprimiendo indirectamente la eritropoyesis.

## BIBLIOGRAFIA:

1. Crosby, W. H.: Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: Relation of the clinical manifestations to underlying pathogenic mechanisms. *Blood* 8: 769, 1953.
2. Dacie, J. V.: The Hemolytic Anemias. Congenital and Acquired (ed 2), Part IV, chapter 17, Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. New York, Grunne Stratton, 1967, pp 1128
3. Wintrobe, M.: Clinical Hematology (sixth ed.); chapter 12; Chronic hemolytic anemia with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria; Philadelphia, Lea Febiger, 1967, pp 664.
4. Marchiafava, E., Nazzari, A.: Nuovo contributo allo studio degli itteri cronici emolitici. *Policlinico Sez. Med.* 18: 241, 1911.
5. Rosse, W. F., Dacie, J. V.: Immune lysis of normal human and Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH) red blood cells. II. The role of complement components in the increase sensitivity of PNH red cells to immune lysis. *J. Clin Invest.* 45: 749, 1966.
6. Hartmann, R. C., Auditore, J. V.: Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. I. Clinical studies. - II. Erythrocyte acetylcholinesterase defect. *Am J. Med.* 27: 389, 1959.
7. Hartmann, R. C., Jenkins, D. E.: Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: Current concepts of certain pathophysiologic features. *Blood* 25: 850, 1965.
8. Ham, T. H.: Chronic hemolytic anemia with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. A study of the mechanism of hemolysis in relation to acid base equilibrium. *New Eng J. of Med.* 217: 915, 1937.
9. Crookston, J. H., Crookston, M. C., Burnie, K. L., Francombe, W. H., Dacie, J. V., Davies, J. A., Lewis, S. M.: Hereditary erythroblastic multinuclearity associated with a positive acidified serum test: a type of congenital diserythropoietic anemia. *Brit J. Hemat* 17:11, 1969.
10. Lewis, S. M., Pettit, J. E., Tattersall, M. H., Peppys, M. B.: Myelofibrosis and Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *Scand J Of Hemat* 8: 451, 1971.
11. Dameshek, W.: Riddle: What do aplastic anemia, paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH) and hypoplastic leukemia have in common?. *Blood* 300: 251, 1967.
12. Lewis, S. M., Dacie, J.W.: The Aplastic Anemia-Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria syndrome. *Brit J. of Hemat* 13: 236, 1967.
13. Jenkins, D. E., Hartmann, R. C.: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria terminatin in acute mieloblastic leukemia. *Blood* 33: 274, 1969.
14. Lewis, S. M., Sirchia, G.: PNH: Disease or Defect? *Brit J. of Hemat* 23 (suppl) 71, 1972.
15. Dacie, J. W., Lewis, S. M.: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: Variations in clinical severity and association with bone marrow hipoplasia. *Brit J. of Haemat* 7: 42, 1961.
16. Quaglione, J. M., Cartwright, G. E., Wintrobe, M. M.: paroxysmal nocturnal Hemoglobinuria following drug induced aplastic anemia. *Ann Int Med* 61: 1045, 1966.
17. Lewis, S. M., Dacie, J. V.: Neutrophil (leucocyte) alkaline phosphatase in paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *Brit J. of Haemat* 11: 549, 1965.
18. Amris, C. J., Hansen, N. E.: Coagulation and fibrinolytic studies in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Act Med. Scand* 184: 551, 1968.
19. Hartmann, R. C., Jenkins, D. E.: The "suger water" test for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *New Eng J Med* 275: 155, 1966.
20. Brubaker, L. H., Schaberg, D. R., Jefferson, D. H., Mengel, C. E.: A potential rapid screening test for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *New Engl J Med* 288: 1059, 1973.
21. Sirchia, G. S., Ferrone, C., Mercuriali, F.: The action of two sulphhydryl compounds on normal human red cells: Relation ship to red cells of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 25: 502, 1965.
22. Sirchia, G. S., Dacie, J. V.: Immune lysis of AET treated normal cells (PNH-like cells). *Nature* 215: 747, 1967.
23. Hansen, N. E., Killman, S. A.: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: A clinical study. *Acta Med Scand* 184: 525, 1968.
24. Hartmann, R. C., Jenkins, D. E., Kems, A. L.: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: Clinical and Laboratory studies relatín to iron metabolism and therapy with androgen and iron. *Medicine* 45: 331, 1966.
25. Gardner, F. H., Laforet, M. T.: The use of clinical dextran in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J. Lab Clin Med* 55: 946, 1960.
26. Mengel, C. E., Hyman, B. N., D'Malley, B. W., Howell, D. A.: Coexistent paroxysmal nocturnal and cold hemoglobinuria preceded by aplastic anemia; a case report and family study. *Blood* 24: 451, 1964.
27. Rubin, H.: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with renal failure. *JAMA* 215: 433, 1971.