

# Vínculo entre el estrés oxidativo y las anemias hemolíticas: una visión molecular

## Link between oxidative stress and hemolytic anemia: A molecular vision

Estevan Marín<sup>1,2</sup>; Noraima Chirinos<sup>1</sup>; Néstor Galban<sup>1</sup>; Bermery Garrido<sup>1</sup>; Yosselin Gómez; Aida Souki<sup>1</sup>; Clímaco Cano<sup>1</sup>; Juan Salazar<sup>1</sup>; Carem Prieto<sup>1,3</sup><sup>\*</sup>

<sup>1</sup> University of Zulia. Maracaibo, Venezuela

<sup>2</sup> Research Division, DBSS, 110861 Bogotá, Colombia

<sup>3</sup> Universidad Católica de Cuenca, Cuenca, Ecuador

\* **Dirigir correspondencia a:** maringarciae@gmail.com

### RESUMEN

#### Proceso editorial

Recibido: 18 06 20

Aceptado: 27 08 20

Publicado: 06 10 20

Las anemias hemolíticas son un conjunto de enfermedades que producen la reducción de la concentración de la hemoglobina en sangre, como resultado del aumento en la destrucción de los glóbulos rojos. Dependiendo de la causa etiológica, estas pueden dividirse en hereditarias o adquiridas. Durante los últimos años, ha ido en aumento la evidencia que indica la participación del estrés oxidativo en diferentes anemias hemolíticas, dentro de las que se encuentran: la deficiencia de la enzima glucosa 6 fosfato deshidrogenasa, anemia falciforme, talasemias, anemia hemolítica autoinmune, hemoglobinuria paroxística nocturna y anemia hemolítica inducida por fármacos. A su vez, se ha sugerido que terapias antioxidantes pueden servir como posibles coadyuvantes en el tratamiento de algunos de estos trastornos hematológicos. Es por esto que el objetivo de esta revisión narrativa es describir concisamente los mecanismos mediante el cual se produce estrés oxidativo en los eritrocitos, su papel en las anemias hemolíticas y los efectos de la terapia antioxidante en el tratamiento de estas

**Palabras clave:** Anemias hemolíticas; Hematíe; Hemólisis; Estrés oxidativo; Radicales libres

### ABSTRACT

Hemolytic anemias are a group of diseases that cause reduction of hemoglobin concentration in blood as a result of the destruction of erythrocytes. According to the etiological causes, hemolytic anemias can be separated in hereditary and acquired. Over the last years, there have been an increase of evidence that points the association of oxidative stress and hemolytic anemias such as glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, sickle cell disease, thalassemias, *autoimmune hemolytic anemia*, paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and drug-induced hemolytic anemia. In conjunction, it has been suggested that antioxidant therapy may work as potential complementary treatment in some of these hematologic diseases. Therefore, the objective of this narrative revision in describing concisely the mechanism of how oxidative stress is produced in erythrocytes, its involvement in hemolytic anemias and lastly the outcome of antioxidant therapy in the treatment of these diseases.

**Keywords:** Hemolytic anemia; Red blood cell; Hemolysis; Oxidative stress; Free radicals

[DOI 10.17081/innosa.91](https://doi.org/10.17081/innosa.91)

©Copyright2020.

Marín<sup>1</sup> et al.



## I. INTRODUCCIÓN

La anemia, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), se define como la reducción de la concentración de la hemoglobina en sangre, con niveles menores de 13g/dL para los hombres y menores de 12g/dL para las mujeres, cifras definidas según el promedio de hemoglobina en individuos saludables (1). Muchas son las causas atribuibles a esta alteración, las cuales van desde las carenciales, como dietas desequilibradas con déficit de hierro, vitamina B12 y ácido fólico, hasta problemas mucho más graves como la enfermedad renal crónica, la destrucción intravascular de glóbulos rojos (GR) por reacciones inmunológicas, e incluso cáncer (2- 5). En relación a su clasificación, dependiendo del grado de severidad basado en la concentración plasmática de hemoglobina, las anemias podrían clasificarse en grave, moderadas y leves, siendo estas últimas de más fácil manejo para el médico de atención primaria (6).

Otra forma de clasificar las anemias, es según la capacidad de regeneración y/o maduración de GR en la médula ósea. En este sentido, una respuesta insuficiente de la médula da lugar a las anemias hipoproliferativas, las cuales pueden subclasificarse de acuerdo a su fisiopatología en anemias ferropénicas o en anemias causadas por lesiones medulares primarias (7). Por su parte, las anemias hiperproliferativas se caracterizan por un aumento en la producción de la serie roja, que a su vez, conlleva a un aumento en la liberación de células inmaduras como los reticulocitos. Dentro de este tipo de anemia, se encuentran las anemias hemolíticas, definidas como el resultado de la pérdida aguda de sangre debido al aumento de la destrucción de los GR, fenómeno conocido como hemólisis (8).

Dependiendo de su etiología, las anemias hemolíticas pueden ser hereditarias o adquiridas (9). Las anemias hemolíticas hereditarias se caracterizan por presentar defectos en los GR (10), los cuales pueden ser: de membrana, tales como la esferocitosis hereditaria; metabólicos, como la deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PD); y defectos en las cadenas de la hemoglobina o hemoglobinopatías, tales como la anemia falciforme (AF) y las  $\alpha$  y  $\beta$  talasemias (11). Por su parte, las anemias hemolíticas adquiridas, pueden ser de tipo inmunológica, mediadas por anticuerpos “fríos” o “calientes”, y las de tipo no inmunológico, mediada por fármacos, enfermedades crónicas, infecciones, entre otras (12-14).

En relación a la patogenia de las anemias hemolíticas, se ha demostrado que de acuerdo a la condición del individuo, el estrés oxidativo (EO) juega un papel importante en la hemólisis, pudiendo alterar las estructuras de las biomoléculas que integran las membranas plasmáticas de los eritrocitos, principalmente a los fosfolípidos, trayendo como consecuencia la inestabilidad de la misma y su posterior destrucción (15). De esta forma, podría plantearse que el EO podría participar como un actor clave en el desarrollo de diversos tipos de anemias hemolíticas (16,17). Por ello, el objetivo de esta revisión es describir concisamente los mecanismos moleculares que conducen a la producción de EO en los eritrocitos, su papel en las anemias hemolíticas y los efectos de la terapia antioxidante en el tratamiento de estos trastornos hematológicos.

## II. ESTRÉS OXIDATIVO: UNA VISIÓN GENERAL

Los radicales libres (RL), son átomos o moléculas que se caracterizan por presentar uno o más electrones desapareados en su orbital externo. Estos se caracterizan por ser muy inestables y altamente reactivos, con capacidad de abstraer electrones de cualquier molécula que integra

las estructuras celulares, convirtiendo así a dicha molécula en un RL y desencadenando de esta forma una cascada de reacciones en cadena (18). Los RL que contienen oxígeno en su estructura son los más relevantes en procesos degenerativos, enfermedades y síndromes (19). En este sentido, las especies reactivas de oxígeno (ERO) son compuestos que derivan de la reducción parcial del oxígeno, y juegan un papel importante en los procesos fisiológicos del organismo, pero que sin embargo, tienen efectos tóxicos, dañando lípidos, proteínas y ADN (20). Por su parte, el EO consiste en el desequilibrio entre la acumulación de ERO y las defensas antioxidantes en células y tejidos, que está relacionado de manera causal con múltiples enfermedades (21).

Entre las ERO se encuentra el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), molécula que resulta de las reacciones catalizadas por enzimas óxido reductasas, como la glucosa oxidasa y la NADPH oxidasa; el radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), que resulta de la adición de un electrón al oxígeno y se genera principalmente en los complejos I y II de la cadena respiratoria mitocondrial (15, 20) (REF); y el radical hidroxilo ( $OH^{\bullet}$ ), uno de los más potentes en el organismo debido a su alta reactividad, el cual se produce a partir de reacciones en las que participan metales de transición como el hierro y el cobre, siendo la reacción de Fenton una de las más conocidas, donde el  $H_2O_2$  reacciona homolíticamente con el  $Fe^{2+}$ , generando  $OH^{\bullet}$  y el anión hidróxido ( $^{\ominus}OH$ ). Así mismo, la reacción de Haber-Weiss, es otra forma para producir este radical, en donde  $O_2^{\bullet-}$  reacciona con el  $H_2O_2$ , en presencia de hierro, generando  $O_2$ ,  $^{\ominus}OH$  y  $OH^{\bullet}$  (22).

Para controlar los efectos nocivos de los RL, las células poseen mecanismos antioxidantes, los cuales pueden clasificarse como enzimáticos y no enzimáticos (23). Entre las enzimas antioxidantes se encuentran: la superóxidodismutasa (SOD), un grupo de metaloenzimas que catalizan la dismutación del superóxido, con la consecuente producción de  $H_2O_2$  (24); la glutatión peroxidasa (GPx) y la glutatión reductasa (GTR), que actúan sobre el glutatión (GSH), permitiendo así la neutralización del  $H_2O_2$  producido dentro de la célula (25); y la catalasa (CAT), que cataliza la conversión de  $H_2O_2$  en  $O_2$  y agua (26). Por su parte, los antioxidantes no enzimáticos se dividen en endógenos y exógenos. Entre los antioxidantes no enzimáticos endógenos se encuentra el ácido úrico, GSH, melatonina, bilirrubina y las poliaminas. Mientras que entre los exógenos se encuentran las vitaminas A, C y E, los flavonoides, carotenoides, ácidos hidroxicinámicos, sulfuros de alilo y curcumina (27, 28).

### III. SISTEMA ANTIOXIDANTE EN LOS ERITROCITOS

Bajo condiciones fisiológicas, los eritrocitos se encuentran continuamente expuestos a ERO, razón por la que cuentan con mecanismos antioxidantes que garantizan un correcto balance de reacciones de óxido-reducción (Redox), y que por tanto aminoran los efectos deletéreos de los RL. Esta maquinaria se conforma por sistemas enzimáticos endógenos como la CAT, GPx, GTR, SOD, peroxirredoxina (PRx) y la G6PD, mientras que entre los sistemas no enzimáticos se encuentra el GSH (29, 30).

En relación al sistema enzimático, es de resaltar que la SOD es una de las enzimas antioxidantes más efectivas, que cataliza la conversión del  $O_2^{\bullet-}$  en oxígeno molecular y  $H_2O_2$ , y a su vez, este es catalizado en  $H_2O$  y  $O_2$  gracias a la acción de la CAT, la cual se encuentra

dentro de los peroxisomas de células nucleadas y en el citoplasma de eritrocitos (30). Sin embargo, SOD no es la única enzima capaz de transformar el  $H_2O_2$ , ya que la PRx y la GPx pueden hacerlo con mayor eficiencia. De hecho, la GPx posee alta afinidad por su sustrato, lo que permite su degradación catalítica aún a concentraciones bajas, utilizando como agente reductor el GSH y obteniendo como producto al glutatión oxidado (GSSG) (29). Por consiguiente, para garantizar la eficacia del sistema antioxidante, el GSSG debe reducirse, y lo hace a través de la reacción catalizada por GTR, que tiene como cofactor NADPH, el cual es obtenido mediante la enzima G6PD perteneciente a la vía de las pentosas fosfatos. Además, el GSH forma parte de uno de los mecanismos antioxidantes no enzimáticos endógenos más importantes, ya que es capaz de estabilizar la hemoglobina ante la presencia de RL, formando un tripéptido (g-glutamil-cisteinil-glicina), presente en su mayoría en el citosol. En condiciones normales la proporción GSH:GSSG es de 10 a 1 o mayor, viéndose disminuida en presencia de EO (30, 31).

#### **IV. MECANISMOS MOLECULARES E IMPLICACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN DIFERENTES TIPOS DE ANEMIA HEMOLÍTICA.**

Durante los últimos años, ha ido en aumento la evidencia sobre el rol que tiene la producción de RL en la fisiopatogenia de las anemias hemolíticas. En este sentido, estudios pre-clínicos en modelos de ratones han logrado demostrar como el EO estaba implicado en la hemólisis (32- 36). Además, estudios epidemiológicos mostraron que distintos biomarcadores de EO se correlacionaron positivamente con las anemias hemolíticas (16, 37-39). A continuación, se describen los mecanismos moleculares subyacentes a la producción de RL y su rol en el proceso patológico de algunas anemias hemolíticas congénitas y adquiridas.

##### ***Anemias hemolíticas congénitas***

Las anemias hemolíticas congénitas se caracterizan principalmente por presentar alteraciones estructurales o funcionales propias del GR. Estas alteraciones involucran trastornos en la membrana eritrocitaria, enzimopatías, y mutaciones que afectan directamente las cadenas de globina (40). Cada uno de estos trastornos, presentan particularidades claves que hacen diferenciar unas anemias de otras, sin embargo, todos tienen en común el efecto determinante que tiene EO en el desarrollo del cuadro hemolítico (41), por lo que resulta necesario la descripción de su rol en las principales anemias hemolíticas congénitas (Figura 1).

- *Deficiencia de Glucosa-6P Deshidrogenasa*

La deficiencia de G6PD, trastorno genético con más de 180 mutaciones alélicas conocidas hasta los momentos, es una de las deficiencias enzimáticas más comunes en el hombre, cuya severidad depende del tipo específico de mutación presente (42, 43). La G6PD es una enzima perteneciente a la vía de las pentosas fosfato, la cual se encarga de oxidar a la glucosa 6 fosfato (G6P), originando  $NADPH+H^+$ , cofactor utilizado en condiciones fisiológicas para mantener el GSH en su forma reducida (44). Para los GR, el GSH conjuntamente con la enzima GPx, son componentes esenciales en la eliminación celular de las ERO y en la reparación de las estructuras celulares que han sido afectadas por agentes oxidantes. Asimismo, al

encargarse de la conversión catalítica del GSSG a GSH, la enzima GTR también resulta clave para mantener este mecanismo antioxidante y así garantizar la homeostasis del mismo (44).

De acuerdo a lo anterior, la deficiencia de G6PD resultaría en un notable desequilibrio redox dentro del hematíe, ya que la disminución en la producción de  $\text{NADPH}+\text{H}^+$  implicaría la incapacidad de regenerar concentraciones suficientes de GSH. De esta forma, el EO aumenta, y con ello la afectación de estructuras celulares como los fosfolípidos de membranas, las cuales en presencia del  $\text{OH}^\bullet$  pueden sufrir peroxidación lipídica. Posteriormente, las modificaciones en la estructura de los ácidos grasos de la membrana, conduce a la ruptura de la misma, aconteciendo finalmente la hemólisis del glóbulo rojo y por consiguiente, el establecimiento de la anemia hemolítica (45-47).

A su vez, la baja concentración del GSH reducido originada por la producción deficiente de NADPH, genera un aumento en el gasto de energía a través de distintos mecanismos, por lo que se observa una disminución acelerada de *adenosina trifosfato* (ATP), y una acumulación de monofosfato de adenosina (AMP). Este último, actúa como un modulador que provoca la activación de adenosina monofosfatocinasa (AMPK), comprometiendo la vía glicolítica y afectando la producción de ATP del eritrocito (37,48, 49).

El abordaje terapéutico del paciente con deficiencia de G6PD, se ha basado principalmente en el uso de hierro, ácido fólico o ciclos de transfusiones sanguíneas (50), ya que hasta el momento, no hay evidencia sobre el uso de la terapia antioxidante en la anemia originada por esta enzimopatía. Por otra parte, el diagnóstico oportuno de estos pacientes resulta esencial para prevenir hemólisis iatrogénicas (ver más adelante), ya que existen varios factores, como fármacos (51), infecciones (52) y alimentos (53), que pueden acelerar el curso de la misma. Por ello, es fundamental que tanto el paciente como los familiares, siempre refieran este antecedente a su médico. Asimismo, en este punto cobra importancia una buena anamnesis y la elaboración de historias clínicas completas, de la mano de sistemas electrónicos que permitan su registro, de forma que se garanticen el abordaje óptimo del paciente (54).

- *Anemia falciforme*

La enfermedad de las células falciformes se trata de una hemoglobinopatía hereditaria, donde los GR se encuentran deformes por una variación genética. La sustitución del aminoácido valina por ácido glutámico en la cadena  $\beta$  de la globina, genera la hemoglobina S (HbS), una forma alterada de la hemoglobina A (HbA), lo que trae como consecuencia que el GR adopte la forma de hoz o media luna (drepanocito), en situaciones de bajo nivel de  $\text{O}_2$  (55). En la clínica, esta enfermedad puede presentar complicaciones como inflamación sistémica, vasculopatías y ciclos de vaso-oclusión, aunque la anemia hemolítica, el dolor y la fatiga, son las manifestaciones más comunes (56).

Las formas alteradas de la HbA son mucho más inestables, lo que trae consigo un aumento de la auto-oxidación que genera ERO dentro de los GR, por ende, una producción excesiva de RL que mediante peroxidación lipídica, llevan a hemólisis (57,58). Estudios indican que los eritrocitos portadores de HbS, producen mayor cantidad de ERO en comparación con los eritrocitos normales, donde se ha determinado que el  $\text{O}_2^\bullet$  y el  $\text{H}_2\text{O}_2$  son generados a través de la reacción de dismutación, promoviendo aún más la hemólisis (16).



Por otra parte, la hemólisis intravascular permite la salida de hemoglobina hacia el plasma sanguíneo, lo cual parece ser uno de los factores que aceleran el desarrollo de complicaciones como úlceras, hipertensión pulmonar y priapismo (59). Esto se debe a que la presencia de hemoglobina libre en el plasma, induce varios efectos vasculares, como la activación endotelial, liberación de ciertas citoquinas y aumento en el consumo de óxido nítrico (ON<sup>•</sup>), procesos que alteran la regulación del tono vascular y contribuyen al fenómeno vaso-oclusivo (60, 61). Asimismo, se ha demostrado que en la hemólisis intravascular, los niveles de ON<sup>•</sup> disminuyen, debido a que los altos niveles de O<sub>2</sub><sup>•</sup> liberados tras el proceso lítico, son capaces de reaccionar con el ON<sup>•</sup>, generando peroxinitrito (ONOO<sup>•</sup>), el cual es un agente oxidante potente (61). Además, en situaciones fisiológicas, la hemoglobina se caracteriza por ser un compuesto liposoluble, por lo que al ser liberada tras la hemólisis, tendría mayor afinidad por las membranas de los eritrocitos intactos, provocando una oxidación de su membrana -debido al alto contenido del hierro-, entrando de esta manera en un ciclo repetitivo, donde la célula se mantiene en estados anormalmente hiperoxidativos (61,62).

Estudios han demostrado que el exceso de hierro en individuos con esta patología, se asocian con complicaciones de mayores grados de severidad (62, 63). Recientemente, otro estudio determinó un vínculo entre exceso de hierro, EO, hemólisis y cardiopatías, al encontrarse en sangre periférica de pacientes con AF, una expresión significativamente reducida de una importante enzima antioxidante, la superóxido dismutasa 2 (SOD2). Tal parece, la expresión de SOD2 destaca como un biomarcador potencial de hipertensión pulmonar en esta anemia hemolítica (41).

A pesar de ser un trastorno no curable, en el abordaje terapéutico de la anemia falciforme se ha considerado el uso de hidroxycarbamida, ciclos de transfusiones de sangre y trasplante de células madre hematopoyéticas, con el propósito de disminuir sus manifestaciones clínicas, sus complicaciones, y en última instancia, evitar fallas multiorgánicas (64, 65). En base al rol patogénico del EO en este tipo de anemia, diversos estudios dejan en evidencia como el uso de terapia antioxidante pareciera tener efectos positivos en la regulación de la producción de RL, bien sea con la administración de vitamina E y selenio (66), ácido ascórbico (67), GSH o sistemas enzimáticos (68). Además, otros antioxidantes como ditiotreitól (DTT), N-acetilcisteína (NAC) y quercetina han mostrado ser efectivos en la protección de peroxidación de lípidos, en el aumento de GSH, y en la disminución de ERO (69). Por su parte, un ensayo clínico en fase-3, demostró que la administración de L-glutamina favoreció el aumento de la forma reducida de dinucleótidos de nicotinamida y adenina en los GR de células falciformes, lo que podría reducir el EO, por lo que se ha como una futura alternativa para estos pacientes (70).

- *Las talasemias:*

La talasemia es un trastorno hematológico autosómico recesivo que se caracteriza por defectos en la síntesis de una o más de las cadenas polipeptídicas,  $\alpha$  ( $\alpha$ -talasemia) o  $\beta$  ( $\beta$ -talasemia), que conforman la HbA del adulto, constituida como un tetrámero  $\alpha_2\beta_2$  (71). La  $\beta$ -talasemia, es el trastorno más común y ampliamente extendido de este grupo, causada por la disminución o ausencia en la síntesis de las cadenas  $\beta$ -globina, lo que lleva a la acumulación de cadenas  $\alpha$  en los GR, produciendo tetrámeros inestables que ocasionan daño celular (57,72). Debido a estas alteraciones en la hemoglobina, las talasemias se caracterizan por la destrucción prematura de precursores de GR en la médula ósea, lo que implica un

acortamiento de su vida media en la circulación, y conlleva a una eritropoyesis ineficaz (73). Asimismo, el EO participa en la patogenia de las talasemias, el cual se origina por la inestabilidad de la hemoglobina y exceso de hierro, ambos mecanismos estimulantes de sobreproducción de RL que conducen a la ineficiencia de las defensas antioxidantes (71).

Entre los tratamientos comunes de las talasemias, se encuentra las terapias de transfusiones sanguíneas acompañadas con terapia de quelación, para evitar la elevación de hierro libre en el cuerpo. Asimismo, se ha empleado el uso de agentes inductores de hemoglobina como la hidroxiurea para aumentar la producción de  $\gamma$ -globina (parecida a la  $\beta$ -globina). Sin embargo, el trasplante de células madre hematopoyéticas es considerado como el único tratamiento que puede curar esta patología, pero al tratarse de un proceso complejo, asociado a múltiples riesgos y complicaciones, no puede ser implementado en todos los casos (74).

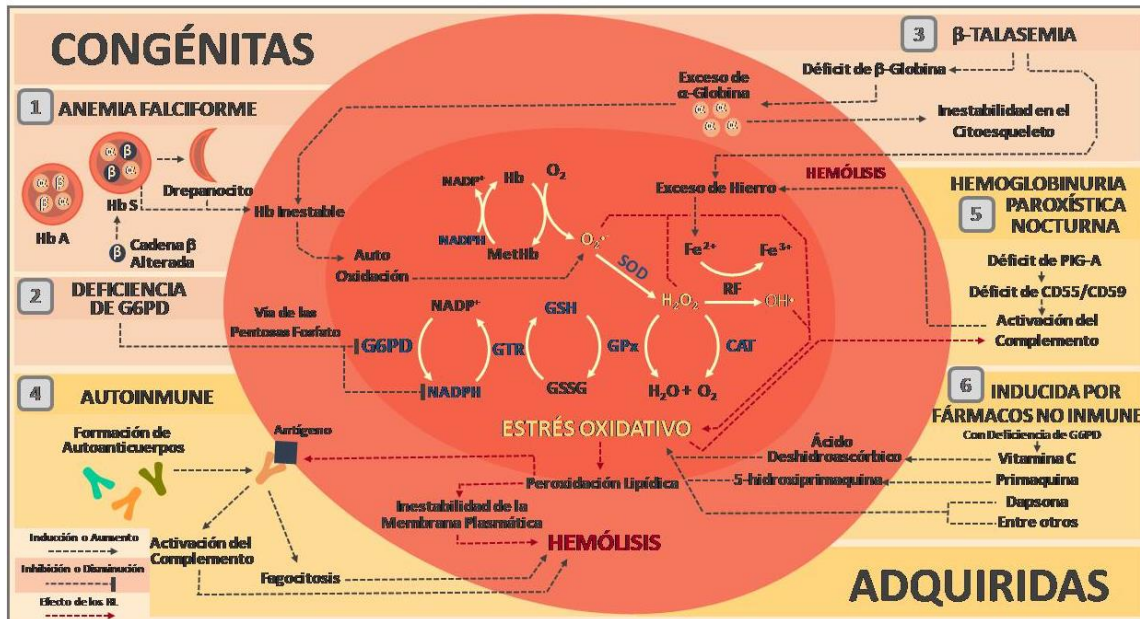
En condiciones normales, el hierro en plasma está unido a transferrina, cuando hay una sobrecarga de hierro, la capacidad de unión de hierro de la transferrina se satura ( $> 80\%$ ) y aparece la fracción de hierro no unido a transferrina (HNUT), la cual es una de las formas de hierro potencialmente tóxicas, que puede promover la formación ERO y propagar desórdenes relacionados con el oxígeno. Cuando el hierro ingresa a la célula, se deposita en la forma de hierro lábil celular (HCL), que es una forma de activa de redox, participando en las reacciones de Fenton y Haber–Weiss, generadoras de ERO, que conduce a la peroxidación de proteínas y lípidos (75-77). De igual forma, el hierro lidera la formación de  $O_2^{\bullet-}$ , incluso puede catalizar la formación de  $H_2O_2$  y generar  $OH^{\bullet}$ , los cuales son uno de los intermediarios reactivos más dañinos del metabolismo celular (78, 79). Lo anterior, resulta importante debido a que las transfusiones frecuentes favorecen la sobrecarga de hierro, al igual que el reciclado por parte de los macrófagos del hierro proveniente de la hemoglobina, la ingesta excesiva, y la hemólisis crónica asociada a esta patología (80, 81).

Por otra parte, los agentes oxidantes también pueden provenir del exceso de cadenas  $\alpha$  no apareadas, las cuales pueden acumularse, desintegrarse y auto-oxidarse, conduciendo a la liberación de grupos hemo generadores de  $O_2^{\bullet-}$ , en un índice mucho más alto que la HbA. La liberación de Hemo puede directamente inhibir numerosas enzimas antioxidantes citoplasmáticas. En la  $\beta$ -talasemia las cadenas de  $\alpha$ -globinas libres son altamente insolubles y precipitan en eritrocitos maduros conduciendo a destrucción masiva de precursores de GR. Si bien la precipitación de las cadenas  $\beta$  libres en  $\alpha$ -talasemia es mínima, existe un doble incremento en el rango de apoptosis en los precursores eritroides en la médula ósea. Además, es de resaltar que el incremento de cadenas de globinas ancladas a membrana, afectan la estructura de proteínas como espectrina, ankirina y actina, claves para el citoesqueleto del eritrocito, e incrementa las cantidades de metahemoglobina y  $H_2O_2$ , así como la reducción de la actividad antioxidante al disminuir las acciones de la CAT, los niveles de GSH, y agotar NADPH (82, 71).

En cuanto a las terapias antioxidantes en este tipo de anemia, se ha evidenciado efectos beneficios con la preparación de papaya fermentada (PPF), por tener actividades antioxidantes que reducen el estrés celular, la peroxidación lipídica, aumentan los niveles de GSH, así como la externalización de fosfatidilserina (PS) (83,84). De igual forma, la cúrcuma exhibe propiedades antioxidantes y queladoras de hierro, reduce la peroxidación de lípidos catalizada por el hierro, y promueve el descenso en los niveles de HNUT y metahemoglobina (85,86). Por su parte, un estudio señala que el resveratrol puede estimular la expresión de los genes  $\gamma$ -

globina, parecidos a los de  $\beta$ -globina, por lo que también representa una posible promesa en el manejo de las talasemias (87, 88).

**Figura 1.** Mecanismos moleculares e implicación del estrés oxidativo en diferentes tipos de anemias hemolíticas.



**Fuente:** Elaboración propia

Distintos mecanismos moleculares e implicación del EO en algunos tipos de anemia hemolítica divididas según su causa etiológica, en congénitas y adquiridas. 1. En la anemia falciforme la HbS inestable aumenta el EO por medio de su auto-oxidación. 2. La deficiencia de G6PD, ocasiona la disminución en la producción de  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  en el eritrocito, lo que implica la imposibilidad de reducir el  $\text{GSSG}$  a  $\text{GSH}$  y por tanto aumenta el EO. 3. En la  $\beta$ -talasemia el exceso de cadenas  $\alpha$  favorece la formación de tetrámeros inestables, lo que acompañado con el exceso de hierro característico de la enfermedad, aumenta el EO. 4. Rangos elevados de EO generan peroxidación lipídica, lo que promueve la inestabilidad de la membrana plasmática, y hemólisis. Pero además puede desencadenar respuestas inmunes aberrantes que contribuyen al desarrollo de autoanticuerpos, activación del complemento y procesos fagocíticos que conllevan a hemólisis en la AHAI. 5. En la hemoglobinuria paroxística nocturna el déficit de  $\text{PIG-A}$  ocasiona un déficit de  $\text{CD55/CD59}$  en la membrana plasmática del GR, lo que conlleva a la activación descontrolada del complemento, conduciendo a hemólisis que libera hemo libre y Hb al medio, generando un exceso de hierro que promueve la formación de RL. A su vez, el EO posiblemente puede activar el complemento, estableciéndose así un círculo vicioso. 6. La AHIF no inmune, ocurre cuando un GR sensible al EO por un déficit enzimático, como es el caso del déficit de G6PD, está en contacto con un fármaco o metabolito oxidativo. Entre los fármacos que se ha evidenciado pueden en si mismos o mediante metabolitos aumentar el EO y producir AHIF se encuentran: la vitamina C, primaquina, dapsona, entre otros.



### **Anemias hemolíticas adquiridas**

Las anemias hemolíticas adquiridas, son un grupo de anemias caracterizadas por la destrucción precoz del eritrocito, secundaria a mecanismos externos al mismo, los cuales pueden ser inmunológicos o no inmunológicos, siendo más prevalentes los primeros. Al igual que en los anteriores tipos de anemias, el EO cumple un rol determinante en el desarrollo de las anemias hemolíticas adquiridas (Figura 1) (89).

- *Anemias hemolítica autoinmunes:*

Las anemias hemolíticas autoinmunes (AHAI), se caracterizan por ser desencadenadas por autoanticuerpos dirigidos contra antígenos presentes en la superficie de membrana de hematíes, donde median su destrucción bien sea por lisis secundaria a la activación del sistema del complemento (hemólisis intravascular), o por fagocitosis mediada por unión a la fracción Fc de inmunoglobulinas (hemólisis extravascular) (90, 91). En este sentido, las AHAI se clasifican según la temperatura de reacción de los anticuerpos, su isotipo, así como la activación del complemento, en AHAI por autoanticuerpos calientes y AHAI por autoanticuerpos fríos. En las AHAI por autoanticuerpos calientes (IgG), la inmunoglobulina presenta su actividad hemolítica a una temperatura de 37°C y representa aproximadamente el 80% de las AH adquiridas, cuya etiología en la mitad de los casos es desconocida; mientras que en la otra mitad, son secundarias a procesos linfoproliferativos, enfermedades autoinmunes (lupus eritematoso sistémico), y en menor porcentaje a tumores sólidos o a fármacos. Respecto a su fisiopatología, la IgG es poco efectiva para activar el sistema de complemento, por lo que principalmente causan hemólisis extravascular (92).

Por su parte, las AHAI por autoanticuerpos fríos (IgM) o crioaglutininas, que actúan a temperaturas de entre 0 a 20 °C, donde la IgM es un potente efector de la vía clásica del complemento debido a que tiene los dos sitios de unión necesarios para C1q. Por lo tanto, puede ejercer lisis tanto intravascular, a través de la formación del complejo de ataque a membrana (MAC), como extravascular, por fagocitosis a través de componentes C3. Este tipo de anemia se presenta en un rango de frecuencia mucho menor que las anteriores, observándose principalmente en pacientes mayores de edad. Pueden ser de causa idiopática (primarias), o secundarias a infecciones o a síndromes linfoproliferativos (93, 94).

En relación a los factores de riesgo de AHAI, si bien se ha encontrado que la producción de citocinas, la desregulación en linfocitos B o T, así como infecciones patogénicas contribuyen al desarrollo de este trastorno, rangos elevados de EO han demostrado generar alteraciones en los sistemas antioxidante, como deficiencia de enzimas PRx o de SOD, lo que puede causar acortamiento en la vida del GB. La oxidación de lípidos y proteínas promovida puede causar respuestas inmunes aberrantes que contribuyen al desarrollo de autoanticuerpos en AHAI (95, 96). Sin embargo, los mecanismos por los cuales se genera EO en este tipo de anemias no están del todo dilucidados. Evidencia preclínica en modelos iniciales para el estudio de AHAI, demostró que los ratones negros de Nueva Zelanda (RNNZ), produjeron espontáneamente autoanticuerpos que los llevó a desarrollar anemia hemolítica a los 6 meses de edad, y que a medida que envejecían los niveles intracelulares de ERO aumentaban, generando epítomos que no estaban presentes durante la eliminación de autoantígenos reactivos de células T (33,97).

Asimismo, productos de peroxidación lipídica, como el malondialdehído, pueden ser epítomos que activan la inmunidad innata, por lo que el EO indirectamente puede estimular la reacción inmune dirigida a moléculas susceptibles como ácidos grasos poliinsaturados, al producir autoanticuerpos contra sus productos peroxidados (98). Por su parte, un estudio realizado por Luchi et al. en RNNZ con deficiencia de superóxido dismutasa 1 (SOD1), señala que el EO en GR es una de las causas de AIHA, demostrando elevación en los niveles de ERO en los GR y en la producción de autoanticuerpos (36). Consecuente a lo anterior, otro estudio en ratones demostró que al alimentarlos con antioxidantes, se lograba suprimir la producción de autoanticuerpos en GR oxidados (35). No obstante, se precisa de mayor información que correlacione estos hechos con este tipo de anemia, principalmente porque la mayoría de estudios son en modelos animales. Aunado a este hecho, no se precisa de estudios que señalen terapias antioxidantes específicas avaladas en humanos con respecto a AHAI.

- *Hemoglobinuria paroxística nocturna:*

La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN), es un trastorno hematopoyético raro de las células madres hematopoyéticas, que se genera por la adquisición de una mutación somática que produce la deficiencia de fosfatidilinositol glucano clase A (PIG-A), necesario para el anclaje de las proteínas reguladoras del complemento CD55 y CD59 en la membrana plasmática, por lo tanto, existe desregulación del sistema de complemento (99). El complemento es una parte crucial del sistema inmune innato, que destruye células patógenas por medio de la opsonización, el complejo de ataque de membrana terminal y el efecto proinflamatorio de algunas anafilatoxinas (C3a y C5a). Cuando el complemento está hiperactivado, como resultado de HPN, provoca una respuesta inflamatoria severa, produciendo hemólisis intravascular, insuficiencia de la médula ósea y una alta incidencia de trombosis venosa (100,101).

Además, la HPN tiene la particularidad de ser una enfermedad en donde se produce un “mosaico” de células sanguíneas, debido a que existen eritrocitos con y sin deficiencia de CD55/CD59, lo cual podría ser un factor contribuyente en los niveles aumentados de EO registrados en estos pacientes (102, 39). En este sentido, en un estudio con una muestra de 11 pacientes con HPN y 11 donantes de control normales, Amer et al. observaron que en las células CD55/CD59 negativas había una elevación de las ERO, de los peróxidos lipídicos de membrana y de la PS, mientras que había disminución del GSH. Así mismo, los GRCD55/CD59 negativos eran hipersensibles a un ataque oxidativo, y su estado oxidativo aumentó después de la interacción con el complemento, previo hemólisis (102).

De igual forma, en el estudio realizado por Osato et al. se evidenciaron resultados similares y se encontró que a pesar de haber un aumento del EO en el suero de pacientes con HPN, no existen diferencias significativas en la actividad antioxidante del suero de pacientes con HPN e individuos sanos (39). A su vez, como la administración de eculizumab, un anticuerpo monoclonal utilizado en el tratamiento de HPN que reduce la hemólisis (103), fue capaz de controlar el EO, se puede hipotetizar que el aumento del estrés celular en la HPN se debió principalmente a la hemólisis mediada por el complemento (39). Esto último se basa en el hecho de que al destruirse, los eritrocitos liberan Hb y hemo libre, pudiendo el hierro en los grupos hemo, producir RL por medio de la reacción de Fenton (104). Al mismo tiempo, el complemento puede ser activado por las ERO (105), pudiendo contribuir a la exacerbación del

cuadro estableciendo un círculo vicioso (17). Cabe destacar que la PPF, al tener importantes efectos antioxidantes (106), podría aliviar los efectos asociados al EO en la HPN, y si bien no disminuye la hemólisis, representaría un prometedor coadyuvante en el tratamiento de la HPN (39).

**Tabla 1.** Fármacos asociados a anemia hemolítica inducida por fármacos u oxidativa.

Fármacos	Autores	Tipo de Estudio	Descripción del Estudio/Caso	Resultados
<b>Primaquina</b>	Taylor et al. (2019) (115)	Estudio Clínico	Estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo. Con una muestra de 2336 personas, donde se incluyeron pacientes ( $\geq 6$ meses), con G6PD normal y que presentaban malaria sin complicaciones, tratados con primaquina.	4 pacientes presentaron hemólisis significativa, de 3 a 5 días después de comenzar el tratamiento, por lo que se asoció a la primaquina. De estos, 3 se recuperaron de 1-3 días de suspendido el fármaco. El paciente restante tenía déficit de G6PD y entró por error al estudio. Este requirió además de la suspensión del fármaco una transfusión de sangre.
	Tiono et al. (2009) (130)	Estudio Clínico	Estudio multicéntrico, aleatorizado, doble ciego y doble simulación con una muestra de 600 pacientes. Que comparó la eficacia y la seguridad de CDA y CPG-DDS en el tratamiento de la malaria en África.	Hubo 18 eventos adversos (3%) potencialmente relacionados con la hemólisis oxidativa en el grupo CDA y 12 (4%) en el grupo CPG – DDS.
<b>Dapsona</b>	Van Malderen et al. (2012) (131)	Caso-Control	En este estudio se comparó a niños con malaria, que después del tratamiento con CDA experimentaron una caída de Hb $\geq 2$ g/dl dentro de los primeros cuatro días (n=117), con aquellos sin una caída de Hb (n=234). Los datos se analizaron utilizando un modelo de regresión logística condicional.	El uso de CDA para tratar la malaria no complicada puede aumentar el riesgo de anemia hemolítica en niños con deficiencia de G6PD.
<b>Amoxicilina</b>	Blanquice et al. (2019) (132)	Reporte de Caso	Paciente masculino de 23 años, con ictericia, debilidad generalizada y vómitos. Con antecedente de tratamiento de 14 días con amoxicilina por infección y posterior extracción de uña encarnada.	Al ingreso, tuvo Hb de 3.7 mg/dl, pancitopenia e hiperbilirrubinemia. Las pruebas de reumatología fueron negativas. Y además se reveló deficiencia de G6PD. Se llegó al diagnóstico de una anemia hemolítica severa, relacionada con la exposición a amoxicilina.
<b>Fenazopiridina</b>	Itty et al. (2019) (117)	Reporte de Caso	Paciente femenino de veinte años de edad, con disnea y orina de color naranja intenso, con antecedente de tratamiento reciente con fenazopiridina durante un mes.	La metahemoglobinemia y la hemólisis intravascular halladas en la paciente, se asoció al mal uso de la fenazopiridina.
<b>Rasburicasa</b>	Bauters et al. (2011) (124)	Reporte de Caso	Paciente preescolar diagnosticado con leucemia linfoblástica aguda e hiperleucocitosis, quien empieza tratamiento con rasburicasa y prednisolona. Horas después de la administración de la segunda dosis de rasburicasa, el paciente desarrolló cianosis clínicamente evidente.	Los análisis de sangre comprobaron que se trataba de anemia hemolítica y metahemoglobinemia. A su vez, no se halló deficiencia de G6PD. Se aplicó la escala de probabilidad de Naranjo la cual reportó que la rasburicasa era la "probable" causa.
<b>Metformina</b>	Meiret et al. (2003) (120)	Reporte de Caso	Paciente femenina de 68 años de edad con diagnóstico reciente de diabetes, tratada con metformina, se presentó en la sala de emergencias con extrema	Se interrumpió la metformina y después de transfusión de concentrado globular, la Hb aumentó y permaneció estable. Por lo que se concluyó que la anemia hemolítica

			debilidad. Análisis de laboratorio arrojaron que tenía anemia.	puede ser un efecto adverso raro de la metformina.
<b>Vitamina C</b>	Reeset <i>et al.</i> (1993) (122)	Reporte de Caso	Paciente masculino de 32 años, VIH positivo, en tratamiento con multivitamínicos, y altas dosis de AA, acude a emergencia por disnea y orina colorada.	Análisis de sangre comprobaron que tenía anemia hemolítica, y déficit de G6PD. Se concluyó que las altas dosis de AA pueden producir AHIF cuando existe déficit de G6PD.
<b>Sulfonamidas</b>	Adams <i>et al.</i> (1977) (113)	Reporte de Caso	Paciente femenina de 79 años, con ITU tratada con 1 mg de sulfisoxazol BID día por 3 semanas. Se le extrajo muestra de sangre para someterla a electroforesis, cuantificación de Hb, análisis estructural, estudios de estabilidad de Hb y exposición in vitro al sulfisoxazol.	En el día 20 de tratamiento, se encontró que la paciente tenía anemia. Los análisis de sangre arrojaron que tenía un porcentaje de Hb Hasharon, sensibles a los efectos oxidativos del sulfisoxazol. Por lo que se hizo diagnóstico de AHIF por sulfisoxazol.
<b>Ácido Nalidixico</b>	Beltonet <i>et al.</i> (1965) (126)	Reporte de Caso	Recién nacido con diagnóstico de anemia hemolítica, hijo de madre, primípara, tratada con 1g de ácido nalidixico, cuatro veces al día, desde el noveno día después del parto.	El análisis de sangre del neonato demostró que el 50% de los GR contenían uno o más cuerpos de Heinz, y la prueba directa de Coombs fue negativa. Según cálculos el recién nacido ingirió 2mg/día de ácido nalidixico en la leche materna, lo que presuntamente le ocasionó AHIF.
<b>Azul de Metileno</b>	Goluboffe <i>et al.</i> (1961) (128)	Reporte de Casos	Casos de 2 lactantes que recibieron grandes dosis de azul de metileno EV, uno durante el tratamiento de la metaemoglobinemia y el otro experimentalmente.	Ambos niños desarrollaron anemia hemolítica aguda aproximadamente una semana después del tratamiento.

**Abreviaturas:** G6PD: Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa; CDA: Clorproguanil–Dapsona–Artesunato; CPG – DDS: Clorproguanil-Dapsona; Hb: Hemoglobina; VIH: Virus de inmunodeficiencia humana; ITU: Infección del tracto urinario; AA: Ácido ascórbico; BID: Dos veces al día; AHIF: Anemia hemolítica inducida por fármacos; EV: Endovenoso.

**Fuente:** Elaboración propia

## V. CONCLUSIONES

En la actualidad, hay evidencia recopilada que respalda el papel del EO en el desarrollo de distintos tipos de anemias hemolíticas. En cada caso particular de anemia, diferentes factores intrínsecos del hematíe como el déficit de G6PD, hemoglobina S, alteraciones en las cadenas de hemoglobina, o factores extrínsecos como la administración de fármacos, reacciones autoinmunes y enfermedades sistémicas, generan de manera directa o indirecta el desbalance entre oxidantes y antioxidantes dentro del hematíe. Este desequilibrio se inclina hacia un ambiente hiperoxidativo, de modo que el aumento de EO se convierte en mecanismo fisiopatológico que agrava el cuadro hemolítico. En base a lo anterior, el manejo del EO se posiciona como un posible objetivo terapéutico en estas anemias, encontrándose quelaterapia con agentes antioxidantes como vitaminas A y E, DTT, NAC y quercetina en la AF, la PPF en la HPN y la talasemia, y también la cúrcuma en esta última, disminuirían los efectos del EO en los hematíes. Finalmente, debido al gran potencial de estas terapias, se necesitan estudios preclínicos y clínicos con mayor calidad científica, que permitan esclarecer si estos antioxidantes podrían ser utilizados como coadyuvantes en el manejo de las anemias hemolíticas.

## ABREVIATURAS

- (OMS) Organización Mundial de la Salud
- (GR) glóbulos rojos
- (G6PD) glucosa 6 fosfato deshidrogenasa
- (RL) radicales libres
- (AF) anemia falciforme
- (EO) estrés oxidativo
- (ERO) especies reactivas de oxígeno
- (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) peróxido de hidrógeno
- (OH•) radical hidroxilo
- (<sup>-</sup>OH) anión hidróxido
- (SOD) superóxido dismutasa
- (SOD2) superóxido dismutasa 2
- (SOD1) superóxido dismutasa 1
- (GPx) glutatión peroxidasa
- (GTR) glutatión reductasa
- (CAT) catalasa
- (GSH) glutatión
- (PRx) peroxirredoxina
- (GSSG) glutatión oxidado
- (G6P) glucosa 6 fosfato
- (ATP) *adenosina trifosfato*
- (AMP) monofosfato de adenosina
- (AMPK) adenosina monofosfatocinasa
- (<sup>•</sup>O<sub>2</sub><sup>-</sup>) radical superóxido
- (O<sub>2</sub>) oxígeno
- (ON•) óxido nítrico
- (ONOO•)peroxinitrito
- (DTT) ditioneitol
- (NAC) N-acetilcisteína
- (PS) fosfatidilserina
- (HNUT) hierro no unido a transferrina
- (HCL) hierro lábil celular
- (MAC) complejo de ataque a membrana
- (AHAI) anemias hemolíticas autoinmunes
- (RNNZ) ratones negros de Nueva Zelanda
- (HPN) hemoglobinuria paroxística nocturna
- (PIG-A) fosfatidilinositol glucano clase A
- (PPF) preparación de papaya fermentada
- (AHIF) anemia hemolítica inducida por fármacos
- (DHA) ácido deshidroascórbico
- (AA) ácido ascórbico
- (REDOX) reacciones de óxido-reducción



**(HbS)** hemoglobina S  
**(HbA)** hemoglobina A  
**(CDA)** Clorproguanil–Dapsona–Artesunato  
**(CPG–DDS)** Clorproguanil-Dapsona  
**(VIH)** virus de inmunodeficiencia humana  
**(ITU)** infección del tracto urinario  
**(BID)** dos veces al día  
**(EV)** endovenoso

**Contribución de los autores:** Conceptualización, E.M., N.CH., A.S y C.C; Redacción del Borrador Original, E.M y N.CH; Escritura: Revisión y Edición, E.M., N.CH.,N.G., B.G.,Y.G.,A.S.,C.C.,J.S y C.P; Visualización, E.M.,A.S.,C.C y C.P; Validación, E.M., N.CH.,A.S Y C.C; Supervisión, E.M., A.S y C.C; Análisis formal, E.M., N.CH.,N.G., B.G.,Y.G.,A.S.,C.C.,J.S y C.P; Metodología, E.M., N.CH.,N.G., B.G.,Y.G.,A.S.,C.C.,J.S y C.P.

**Fondos:** Esta investigación no recibió fondos externos.

**Conflictos de intereses:** Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## REFERENCIAS

1. Powell DJ, Achebe MO. Anemia for the Primary Care Physician. Prim Care Clin Off Pract. 2016;43(4):527–42. DOI: [10.1016/j.pop.2016.07.006](https://doi.org/10.1016/j.pop.2016.07.006)
2. Camaschella C. Iron-deficiency anemia. New England Journal of Medicine. 2015;372(19):1832-43 DOI: [10.1056/NEJMra1401038](https://doi.org/10.1056/NEJMra1401038)
3. Moyano E. Factores asociados a la anemia en niños ecuatorianos de 1 a 4 años. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica. 2019;38(6):695-99. Web: [http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev\\_aavft/article/view/17603](http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_aavft/article/view/17603)
4. Laubach J. Initial therapy in older patients with multiple myeloma. New England Journal of Medicine. 2019;380(22):2172-3. DOI: [10.1056/NEJMe1904372](https://doi.org/10.1056/NEJMe1904372)
5. Garófalo A, Morán L, Villamarin S, Quizhpi P, Uribe V. Prevalencia de anemia moderada a severa en pacientes con enfermedad renal crónica en hemodiálisis. Revista Latinoamericana de Hipertensión. 2018;13(1):29-33. Web: [http://www.revhipertension.com/rlh\\_1\\_2018/prevalencia\\_anemia\\_moderada.pdf](http://www.revhipertension.com/rlh_1_2018/prevalencia_anemia_moderada.pdf)
6. WHO. Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity. Vitamin and Mineral Nutrition Information System. Geneva, World Health Organization, 2011 (WHO/NMH/NHD/MNM/11.1) Web: <https://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin/en/>
7. García Iglesias MF, Bernardino de la Serna JI, Díez Porres L, Mora Rillo M, Lavilla Uriol P, Gil Aguado A. Un paciente con anemia. MedIntegr. 2001;38(1):8-17. Web: <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-sumario-vol-38-num-1-X0210943301X09100>
8. Dhaliwal G, Cornet PA, Tierney LM. Hemolytic anemia. Am Fam Physician. 2004;69(11):2599-606 Web: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15202694/>
9. Vignon G, Jeanneau R, Labrousse J, Aubrit S, Mottaz P, Carrère F, et al. How I do in front of an hemolytic anemia of unknown etiology? Ann Biol Clin (Paris). 2018;76(5):493-503. DOI: 10.1684/abc.2018.1381

10. Haley K. Congenital hemolytic anemia. *Medical Clinics of North America*. 2017;101(2):361-74 [DOI: 10.1016/j.mcna.2016.09.008](https://doi.org/10.1016/j.mcna.2016.09.008)
11. Risinger M, Emberesh M, Kalfa TA. Rare hereditary hemolytic anemias. 2019;33(3):373-92 [DOI: 10.1016/j.hoc.2019.01.002](https://doi.org/10.1016/j.hoc.2019.01.002)
12. Berentsen S, Randen U, Tjønnfjord GE. Cold agglutinin-mediated autoimmune hemolytic anemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2015;29(3):455-71. [DOI: 10.1016/j.hoc.2015.01.002](https://doi.org/10.1016/j.hoc.2015.01.002)
13. Kalfa TA. Warm antibody autoimmune hemolytic anemia. *Hematology*. 2016;(1):690-7. [DOI: 10.1182/asheducation-2016.1.690](https://doi.org/10.1182/asheducation-2016.1.690)
14. Renard D, Rosselet A. Drug-induced hemolytic anemia: Pharmacological aspects. *Transfusion Clinique et Biologique*. 2017;24(3):110-4. [DOI: 10.1016/j.tracli.2017.05.013](https://doi.org/10.1016/j.tracli.2017.05.013)
15. Van Zwieten R, Verhoeven AJ, Roos D. Inborn defects in the antioxidant systems of human red blood cells. *Free Radical Biology and Medicine*. 2014; 67:377-86. [DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.11.022](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.11.022)
16. Hierso R, Waltz X, Mora P, Romana M, Lemonne N, Connes P, et al. Effects of oxidative stress on red blood cell rheology in sickle cell patients. *Br J Haematol*. 2014;166(4):601–6. Web: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/bjh.12912>
17. Fibach E, Dana M. Oxidative stress in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and other conditions of complement-mediated hemolysis. *Free Radic Biol Med*. 2015;88:63–9. [DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.04.027](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.04.027)
18. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Ind J Clin Biochem* 2015;30:11–26. [DOI: 10.1007/s12291-014-0446-0](https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0)
19. Corrales LC, Ariza MMM. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova*. 2012;10(18). Web: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S179424702012000200009&script=sci\\_abstract&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S179424702012000200009&script=sci_abstract&tlng=es)
20. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;8416763. [DOI: 10.1155/2017/8416763](https://doi.org/10.1155/2017/8416763)
21. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2011;25:287–99. [DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2010.10.016](https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2010.10.016)
22. Bissinger R, Bhuyan AAM, Qadri SM, Lang F. Oxidative stress, eryptosis and anemia: a pivotal mechanistic nexus in systemic diseases. *FEBS J*. 2019;286(5):826-54. [DOI: 10.1111/febs.14606](https://doi.org/10.1111/febs.14606)
23. Nimse SB, Pal D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv*. 2015;5:27986–8006. Web: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/ra/c4ra13315c#!divAbstract>
24. Younus H. Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2018;12:88–93. Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5969776/>
25. Yang MS, Chan HW, Yu LC. Glutathione peroxidase and glutathione reductase activities are partially responsible for determining the susceptibility of cells to oxidative stress. *Toxicology*. 2006;226:126–30. [DOI: 10.1016/j.tox.2006.06.008](https://doi.org/10.1016/j.tox.2006.06.008)
26. Scibior D, Czczot H. Catalase: structure, properties, functions. *Postepy Hig Med Dosw*. 2006;60:170–80. Web: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16618987/>
27. Moussa Z, M.A. Judeh Z, A. Ahmed S. Nonenzymatic Exogenous and Endogenous Antioxidants. *Free Radical Medicine and Biology*. *IntechOpen*. 2019. [DOI: 10.5772/intechopen.87778](https://doi.org/10.5772/intechopen.87778)

28. Lares M, Tafurt G, Suarez O, Alvarez C, El Khori S. Efecto del consumo de chocolate oscuro de granos cacao sin fermentar, sobre marcadores de estrés oxidativo y, disfunción endotelial en una población sana. *Revista Latinoamericana de Hipertensión*. 2019;14(2):163-67. Web: [http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev\\_lh/article/view/16346/144814482877](http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_lh/article/view/16346/144814482877)
29. Han, Ying-Hao, et al. Peroxiredoxin II is essential for preventing hemolytic anemia from oxidative stress through maintaining hemoglobin stability. 2012;426(3):427-32 [DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.08.113](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.08.113)
30. Neha, K, Haider M.R, Pathak A, Yar M.S. Medicinal prospects of antioxidants: A review. *Eur. J. Med. Chem.* 2019;178:687–704. [DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.06.010](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.010)
31. Sivilotti. Oxidant Stress and Haemolysis of the Human Erythrocyte. *Toxicol Rev.* 2004;23(3):169-188. [DOI: 10.2165/00139709-200423030-00004](https://doi.org/10.2165/00139709-200423030-00004)
32. Rochford R, Ohrt C, Baresel PC, Campo B, Sampath A, Magill AJ, et al. Humanized mouse model of glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency for in vivo assessment of hemolytic toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2013;110:17486–91. [DOI: 10.1073/pnas.1310402110](https://doi.org/10.1073/pnas.1310402110)
33. Iuchi Y, Okada F, Onuma K, Onoda T, Asao H, Kobayashi M, et al. Elevated oxidative stress in erythrocytes due to a SOD1 deficiency causes anaemia and triggers autoantibody production. *Biochemical Journal.* 2007;402:219–27. [DOI: 10.1042/BJ20061386](https://doi.org/10.1042/BJ20061386)
34. Charrin E, Ofori-Acquah SF, Nader E, Skinner S, Connes P, Pialoux V, et al. Inflammatory and oxidative stress phenotypes in transgenic sickle cell mice. *Blood Cells, Molecules, and Diseases.* 2016;62:13–21. [DOI: 10.1016/j.bcmd.2016.10.020](https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2016.10.020)
35. Konno T, Otsuki N, Kurahashi T, Kibe N, Tsunoda S, Iuchi Y, et al. Reactive oxygen species exacerbate autoimmune hemolytic anemia in New Zealand Black mice. *Free Radical Biology and Medicine.* 2013;65:1378–84. [DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.09.021](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.09.021)
36. Iuchi Y, Kibe N, Tsunoda S, Suzuki S, Mikami T, Okada F, et al. Implication of oxidative stress as a cause of autoimmune hemolytic anemia in NZB mice. *Free Radical Biology and Medicine.* 2010;48(7):935–44. [DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.01.012](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.01.012)
37. Tang H, Ho H, Wu P, Chen S, Kuypers FA, Cheng M, et al. Inability to Maintain GSH Pool in G6PD-Deficient Red Cells Causes Futile AMPK Activation and Irreversible Metabolic Disturbance. *Antioxid Redox Signal.* 2015;22(9):744–59. [DOI: 10.1089/ars.2014.6142](https://doi.org/10.1089/ars.2014.6142)
38. Cappellini MD, Tavazzi D, Duca L, Graziadei G, Mannu F, Turrini F, et al. Metabolic indicators of oxidative stress correlate with haemichrome attachment to membrane, band 3 aggregation and erythrophagocytosis in beta-thalassaemia intermedia. *Br J Haematol.* 1999;104:504–12. [DOI: 10.1046/j.1365-2141.1999.01217.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.1999.01217.x)
39. Osato M, Nishimura J, Motoki Y, Hayashi S, Ueda Y, Nojima J, et al. Oxidative Stress and Intravascular Hemolysis in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *Blood.* 2014;124:4017–4017. [DOI: 10.1182/blood.V124.21.4017.4017](https://doi.org/10.1182/blood.V124.21.4017.4017)
40. Rets A, Clayton AL, Christensen RD, Agarwal AM. Molecular diagnostic update in hereditary hemolytic anemia and neonatal hyperbilirubinemia. *Int J Lab Hematol.* 2019;41(S1):95-101. [DOI: 10.1111/ijlh.13014](https://doi.org/10.1111/ijlh.13014)
41. Armenis I, Kalotychoy V, Tzanetea R, Moysakis I, Anastasopoulou D, Pantos C, et al. Reduced peripheral blood superoxide dismutase 2 expression in sickle cell disease. *Ann Hematol.* 2019;98(7):1561-72. [DOI: 10.1007/s00277-019-03709-8](https://doi.org/10.1007/s00277-019-03709-8)

42. Minucci A, Moradkhani K, Hwang MJ, Zuppi C, Giardina B, Capoluongo E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6pd) mutations database: Review of the “old” and update of the new mutations. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2012;48(3):154-65. DOI: [10.1016/j.bcmd.2012.01.001](https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2012.01.001)
43. Domingo GJ, Advani N, Satyagraha AW, Sibley CH, Rowley E, Kalnoky M, et al. Addressing the gender-knowledge gap in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: challenges and opportunities. *Int Health*. 2019;11(1):7-14. Web: <https://scholars.houstonmethodist.org/en/publications/addressing-the-gender-knowledge-gap-in-glucose-6-phosphate-dehydr>
44. Tang J, Jiang C, Xiao X, Fang Z, Li L, Han L, et al. Changes in red blood cell membrane structure in G6PD deficiency: An atomic force microscopy study. *Clin Chim Acta*. 2015;444:264–70. DOI: [10.1016/j.cca.2015.02.042](https://doi.org/10.1016/j.cca.2015.02.042)
45. Ho H-Y, Cheng M-L, Chiu DT-Y. Glucose-6-phosphate dehydrogenase – beyond the realm of red cell biology. *Free Radic Res*. 2014;48(9):1028–48. DOI: [10.3109/10715762.2014.913788](https://doi.org/10.3109/10715762.2014.913788)
46. Belfield KD, Tichy EM. Review and drug therapy implications of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *American Journal of Health-System Pharmacy*. 2018;75(3):97-104. DOI: [10.2146/ajhp160961](https://doi.org/10.2146/ajhp160961)
47. Luzzatto L, Nannelli C, Notaro R. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Hematology/Oncology Clinics of North America*. 2016;30(2):373-93. DOI: [10.1016/j.hoc.2015.11.006](https://doi.org/10.1016/j.hoc.2015.11.006)
48. Wu N, Zheng B, Shaywitz A, Dagon Y, Tower C, Bellinger G, et al. AMPK-Dependent Degradation of TXNIP upon Energy Stress Leads to Enhanced Glucose Uptake via GLUT1. *Mol Cell*. 2013;49(6):1167–75. DOI: [10.1016/j.molcel.2013.01.035](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.01.035)
49. Hancock CR, Brault JJ, Terjung RL. Protecting the cellular energy state during contractions: role of AMP deaminase. *J Physiol Pharmacol Off J Pol Physiol Soc*. 2006;10:17–29. Web: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17242488/>
50. Alatorre M, González J, López I, Rojo W. Deficiencia de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa. *RevSalJal*. 2017;4(3).DOI: <https://www.medigraphic.com/pdfs/saljalisco/sj-2017/sj173e.pdf>
51. Lacerda MVG, Llanos-Cuentas A, Krudsood S, Lon C, Saunders DL, Mohammed R, et al. Single-dose tafenoquine to prevent relapse of plasmodium vivax malaria. *New England Journal of Medicine*. 2019; 380(3):215-28. DOI: [10.1056/NEJMoa1710775](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1710775)
52. Huo TI, Wu JC, Chiu CF, Lee SD. Severe hyperbilirubinemia due to acute hepatitis A superimposed on a chronic hepatitis B carrier with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Am J Gastroenterol*. 1996;91(1):158-9. Web: <https://europepmc.org/article/med/8561121>
53. La Vieille S, Lefebvre DE, Khalid AF, Decan MR, Godefroy S. Dietary restrictions for people with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Nutrition Reviews*. 2019;77(2):96-106. DOI: [10.1093/nutrit/nuy053](https://doi.org/10.1093/nutrit/nuy053)
54. Bulp J, Jen M, Matuszewski K. Caring for glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6pd)–deficient patients: implications for pharmacy. *P T*. 2015;40(9):572-4. Web: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26417175/>
55. Sundd P, Gladwin MT, Novelli EM. Pathophysiology of sickle cell disease. *Annu Rev Pathol Mech Dis*. 2019;14(1):263-92. DOI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7053558/>
56. Heeney MM, Hoppe CC, Abboud MR, Inusa B, Kanter J, Ogutu B, et al. A Multinational Trial of Prasugrel for Sickle Cell Vas-Occlusive Events. *N Engl J Med*. 2016;374(7):625-35. DOI: [10.1056/NEJMoa1512021](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1512021)

57. Fibach E, Rachmilewitz E. The role of oxidative stress in hemolytic anemia. *Curr Mol Med*. 2008;8(7):609–19. DOI: [10.2174/156652408786241384](https://doi.org/10.2174/156652408786241384)
58. Chirico EN, Faës C, Connes P, Canet-Soulas E, Martin C, Pialoux V. Role of Exercise-Induced Oxidative Stress in Sickle Cell Trait and Disease. *SportsMed*. 2016;46(5):629–39. DOI: [10.1007/s40279-015-0447-z](https://doi.org/10.1007/s40279-015-0447-z)
59. Conran N. Intravascular Hemolysis: A Disease Mechanism Not to Be Ignored. *Acta Haematol*. 2014;132(1):97–9. DOI: [10.1159/000356836](https://doi.org/10.1159/000356836)
60. Almeida CB, Souza LEB, Leonardo FC, Costa FTM, Werneck CC, Covas DT, et al. Acute hemolytic vascular inflammatory processes are prevented by nitric oxide replacement or a single dose of hydroxyurea. *Blood*. 2015;126(6):711–20. DOI: [10.1182/blood-2014-12-616250](https://doi.org/10.1182/blood-2014-12-616250)
61. Kato GJ, Steinberg MH, Gladwin MT. Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. *Journal of Clinical Investigation*. 2017;127(3):750-60. DOI: [10.1172/JCI89741](https://doi.org/10.1172/JCI89741)
62. dos Santos TE de J, de Sousa GF, Barbosa MC, Gonçalves RP. The role of iron overload on oxidative stress in sickle cell anemia. *Biomark Med*. 2012;6(6):813–9. DOI: [10.2217/bmm.12.71](https://doi.org/10.2217/bmm.12.71)
63. Al-Naama LM, Hassan MK, Mehdi JK. Association of erythrocytes antioxidant enzymes and their cofactors with markers of oxidative stress in patients with sickle cell anemia. *Qatar Medical Journal*. 2015;2015(2):14. DOI: [10.5339/qmj.2015.14](https://doi.org/10.5339/qmj.2015.14)
64. Vichinsky E. Chronic organ failure in adult sickle cell disease. *Hematology*. 2017(1):435-9. DOI: [10.1182/asheducation-2017.1.435](https://doi.org/10.1182/asheducation-2017.1.435)
65. Kato GJ, Piel FB, Reid CD, Gaston MH, Ohene-Frempong K, Krishnamurti L, et al. Sickle cell disease. *Nature Reviews Disease Primers*. 2018;4(1):1-22. DOI: [10.1038/nrdp.2018.10](https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.10)
66. Hamdy MM, Mosallam DS, Jamal AM, Rabie WA. Selenium and Vitamin E as antioxidants in chronic hemolytic anemia: Are they deficient? A case-control study in a group of Egyptian children. *Journal of Advanced Research*. 2015;6(6):1071-7. DOI: [10.1016/j.jare.2015.01.002](https://doi.org/10.1016/j.jare.2015.01.002)
67. Lachant NA, Tanaka KR. Antioxidants in sickle cell disease: the in vitro effects of ascorbic acid. *The American Journal of the Medical Sciences*. 1986;292(1):3-10. DOI: [10.1097/00000441-198607000-00001](https://doi.org/10.1097/00000441-198607000-00001)
68. Obeagu Emmanuel I, Ifeoma Stella E, Anyiam AF. Antioxidantes en el tratamiento de la anemia falciforme. *Int J HematolBlo Dis*. 2018;3(2): 1-2. Web: <http://www.scielo.org.co/pdf/sun/v32n3/v32n3a14.pdf>
69. Al Balushi H, Hannemann A, Rees D, Brewin J, Gibson JS. The effect of antioxidants on the properties of red blood cells from patients with sickle cell anemia. *Front Physiol*. 2019; 10: 976. DOI: [10.3389/fphys.2019.00976](https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00976)
70. Niihara, Y, et al. A Phase 3 Trial of L-Glutamine in Sickle Cell Disease. *NEJM*. 2018;379 (3):226-235. DOI: [10.1056/NEJMoa1715971](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1715971)
71. Awadallah, Samir. Protein Antioxidants in Thalassemia. *Advances in ClinicalChemistry*. 2013;60:85-128. DOI: [10.1016/b978-0-12-407681-5.00003-9](https://doi.org/10.1016/b978-0-12-407681-5.00003-9)
72. Taher, Weatherall, Cappellini. Thalassaemia. *Lancet*. 2018;391:155–67. DOI: [10.1016/S0140-6736\(17\)31822-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31822-6)
73. Voskou, et al. Oxidative Stress in  $\beta$ -Thalassaemia and Sickle Cell Disease. *Redox Biology*. 2015;6:226-39. DOI: [10.1016/j.redox.2015.07.018](https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.07.018)
74. Cappellini, MariaDomenica, et al. An Overview of Current Treatment Strategies for  $\beta$ -Thalassemia. *Expert OpinonOrphanDrugs*. 2014;2(7):665-79. Web: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/21678707.2014.918503>



75. Rund D, Rachmilewitz E.  $\beta$ -Thalassemia. *N Engl J Med* 2005;353(11):1135–46. [DOI: 10.1056/NEJMra050436](https://doi.org/10.1056/NEJMra050436)
76. Fibach, Eitan, y Mutaz Dana. Oxidative Stress in  $\beta$ -Thalassemia. *Molecular Diagnosis & Therapy*. 2019;23(2):245-61. [DOI: 10.1007/s40291-018-0373-5](https://doi.org/10.1007/s40291-018-0373-5)
77. W. Breuer, H. Ghoti, A. Shattat, et al., Non-transferrin bound iron in Thalassemia: differential detection of redox active forms in children and older patients, *Am. J. Hematol.* 87 (2012) 55–61. [DOI: 10.1002/ajh.22203](https://doi.org/10.1002/ajh.22203)
78. Brissot P, Ropert M, Le Lan C, Loreal O. Non-transferrin bound iron: a key role in iron overload and iron toxicity. *BiochimBiophys Acta*. 2012;1820:403-410. [DOI: 10.1016/j.bbagen.2011.07.014](https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.07.014)
79. Imam, Mustapha, et al. Antioxidants Mediate Both Iron Homeostasis and Oxidative Stress. *Nutrients* 2017;9(7):671. [DOI: 10.3390/nu9070671](https://doi.org/10.3390/nu9070671)
80. Sahu S, Hemlata, Verma A. Adverse events related to blood transfusion. *Indian J Anaesth*2014;58:543. Web: <http://www.ijaweb.org/article.asp?issn=0019-5049;year=2014;volume=58;issue=5;spage=543;epage=551;aulast=Sahu>
81. Fibach E, Rachmilewitz E. Iron overload in hematological disorders. *La Presse Medicale*. 2017;46(12):e296-305. [DOI: 10.1016/j.lpm.2017.10.007](https://doi.org/10.1016/j.lpm.2017.10.007)
82. De Franceschi, et al. Oxidative Stress and  $\beta$ -Thalassemic Erythroid Cells behind the Molecular Defect. *Oxidative Medicine and Cellular longevity*. 2013;2013:1-10. [DOI: 10.1155/2013/985210](https://doi.org/10.1155/2013/985210)
83. Amer, Goldfarb, Rachmilewitz, Fibach. Fermented Papaya Preparation as Redox Regulator in Blood Cells of  $\beta$ -Thalassemic Mice and Patients. *Phytother. Res.* 2008;22:820–828. [DOI: 10.1002/ptr.2379](https://doi.org/10.1002/ptr.2379).
84. Fibach, Tan, Jamuar, Ng, Amer, Rachmilewitz. Amelioration of Oxidative Stress in Red Blood Cells from Patients with  $\beta$ -thalassemia Major and Intermedia and E- $\beta$ -thalassemia Following Administration of a Fermented Papaya Preparation. *Phytother. Res.* 2010;24:1334–1338. [DOI: 10.1002/ptr.3116](https://doi.org/10.1002/ptr.3116).
85. Kalpravidh R, N. Siritanaratkul, P. Insain, et al. Improvement in oxidative stress and antioxidant parameters in beta-thalassemia/Hb E patients treated with curcuminoid. *Clin. Biochem.* 2010;43: 423–429. [DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2009.10.057](https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2009.10.057)
86. Srichairatanakool, et al. Curcumin contributes to in vitro removal of non-transferrin bound iron by deferiprone and desferrioxamine in thalassemic plasma. *Medicinal Chemistry*. 2007;3(5):469–474. [DOI: 10.2174/157340607781745447](https://doi.org/10.2174/157340607781745447)
87. Haghpanah, Zarei, Eshghi, Zekavat, Bordbar, Hoormand, Karimi. Efficacy and safety of resveratrol, an oral hemoglobin F-augmenting agent, in patients with beta-thalassemia intermedia. [DOI: 10.1007/s00277-018-3392-8](https://doi.org/10.1007/s00277-018-3392-8)
88. Kelkel M, Jacob C, Dicato M, Diederich M. Potential of the dietary antioxidants resveratrol and curcumin in prevention and treatment of hematologic malignancies. *Molecules*. 2010;15:7035–7074. [DOI: 10.3390/molecules15107035](https://doi.org/10.3390/molecules15107035)
89. Noronha SA. Acquired and Congenital Hemolytic Anemia. *Pediatrics in Review* 2016;37:235–46. [DOI: 10.1542/pir.2015-0053](https://doi.org/10.1542/pir.2015-0053)
90. Barcellini, Wilma, et al. Autoimmune hemolytic anemia, autoimmune neutropenia and aplastic anemia in the elderly. *EuropeanJournalofInternal Medicine*. 2018;58:77–83. [DOI: 10.1016/j.ejim.2018.05.034](https://doi.org/10.1016/j.ejim.2018.05.034)

91. Torres Y, Bermúdez V, Garicano C, Villasmil N, Bautista J, Martínez M, et al. Desarrollo del sistema inmunológico ¿naturaleza o crianza?. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica 2017; 36(5);184-91. Web: [http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev\\_aavft/article/view/14466](http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_aavft/article/view/14466)
92. Quist E, Koepsell S. Autoimmune hemolytic anemia and red blood cell autoantibodies. Arch Pathol Lab Med 2015;139:1455–8. DOI: [10.5858/arpa.2014-0337-RS](https://doi.org/10.5858/arpa.2014-0337-RS)
93. Liebman, Howard, et al. Autoimmune Hemolytic Anemia. Medical Clinic of North America. 2017;101(2):351–359. DOI: [10.1016/j.mcna.2016.09.007](https://doi.org/10.1016/j.mcna.2016.09.007)
94. Rodríguez M, Contreras I, Rojas J, Bermúdez V. Sarcoma de Kaposi diseminado asociado al uso de corticosteroides en paciente con SIDA. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica 2014; 33(2); 69-75. Web: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-02642014000200004](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-02642014000200004)
95. Fuji, Junichi. Oxidative stress as a potential causal factor for autoimmune hemolytic anemia and systemic lupus erythematosus. World Journal of Nephrology. 2015;4(2):213. DOI: [10.5527/wjn.v4.i2.213](https://doi.org/10.5527/wjn.v4.i2.213)
96. Howie, Heaher, Krysaln, Hudson. Murine models of autoimmune hemolytic anemia. Current Opinion in Hematology. 2018;25(6):473–481. DOI: [10.1097/MOH.0000000000000459](https://doi.org/10.1097/MOH.0000000000000459)
97. Homma. Takujiro, et al. SOD1 deficiency decreases proteasomal function, leading to the accumulation of ubiquitinated proteins in erythrocytes. Archives of Biochemistry and Biophysics. 2015;583:65-72. DOI: [10.1016/j.abb.2015.07.023](https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.07.023)
98. Papac-Milicevic N, Busch CJ-L, Binder CJ. Malondialdehyde Epitopes as Targets of Immunity and the Implications for Atherosclerosis. Elsevier Advances in Immunology. 2016;131:1–59. DOI: [10.1002/hep.28970](https://doi.org/10.1002/hep.28970)
99. Miyata T, Yamada N, Iida Y, Nishimura J, Takeda J, Kitani T, et al. Abnormalities of PIG-A Transcripts in Granulocytes from Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. N Engl J Med. 1994;330:249–55. DOI: [10.1056/NEJM199401273300404](https://doi.org/10.1056/NEJM199401273300404)
100. DeZern AE, Brodsky RA. Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. Hematology/Oncology Clinics of North America. 2015;29:479–94. DOI: [10.1016/j.hoc.2015.01.005](https://doi.org/10.1016/j.hoc.2015.01.005)
101. Noris M, Remuzzi G. Overview of Complement Activation and Regulation. Seminars in Nephrology. 2013;33:479–92. DOI: [10.1016/j.semnephrol.2013.08.001](https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2013.08.001)
102. Amer J, Zelig O, Fibach E. Oxidative status of red blood cells, neutrophils, and platelets in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Experimental Hematology. 2008;36:369–77. DOI: [10.1016/j.exphem.2007.12.003](https://doi.org/10.1016/j.exphem.2007.12.003)
103. De Maria GL, Sarwar R, Banning AP. Eculizumab treatment for paroxysmal nocturnal haemoglobinuria in a patient with recurrent simultaneous multivessel coronary stent thrombosis. Oxf Med Case Reports. 2015;2015:167–9. DOI: [10.1093/omcr/omu063](https://doi.org/10.1093/omcr/omu063)
104. Sadrzadeh SM, Graf E, Panter SS, Hallaway PE, Eaton JW. Hemoglobin. A biologic fenton reagent. J Biol Chem. 1984;259:14354–6. Web: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6094553/>
105. Shingu M, Nonaka S, Nishimukai H, Nobunaga M, Kitamura H, Tomo-Oka K. Activation of complement in normal serum by hydrogen peroxide and hydrogen peroxide-related oxygen radicals produced by activated neutrophils. Clinical & Experimental Immunology. 2008;90:72–8. DOI: [10.1111/j.1365-2249.1992.tb05834.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.1992.tb05834.x)
106. Aruoma OI, Colognato R, Fontana I, Gartlon J, Migliore L, Koike K, et al. Molecular effects of fermented papaya preparation on oxidative damage, MAP Kinase activation and modulation of the

benzo[a]pyrene mediated genotoxicity. *BioFactors*. 2006;26:147–59. [DOI: 10.1002/biof.5520260205](https://doi.org/10.1002/biof.5520260205).

107. Mintzer DM, Billet SN, Chmielewski L. Drug-Induced Hematologic Syndromes. *Advances in Hematology*. 2009;2009:1–11. [DOI: 10.1155/2009/495863](https://doi.org/10.1155/2009/495863)
108. Petz LD, Garratty G, Petz LD. *Immune hemolytic anemias*. 2nd ed. Philadelphia, Pa: Churchill Livingstone/Elsevier Science; 2004. Web: <https://www.elsevier.com/books/immune-hemolytic-anemias/petz/978-0-443-08559-8>
109. Garratty G. Immune hemolytic anemia caused by drugs. *Expert Opinion on Drug Safety*. 2012;11:635–42. [DOI: 10.1517/14740338.2012.678832](https://doi.org/10.1517/14740338.2012.678832)
110. Ortiz JR, Méndez M, Garcia LP, Ramírez E, et al. Anemia hemolítica autoinmunitaria. Un reto diagnóstico y terapéutico. *Hematol Mex*. 2017;18(4):168-176. DOI: <https://www.medigraphic.com/pdfs/hematologia/re-2017/re174d.pdf>
111. Fox CL, Ottenberg R. Acute Hemolytic Anemia From The Sulfonamides. *J Clin Invest*. 1941;20:593–602. <https://doi.org/10.1172/JCI101252>.
112. Williams MF, Doss EP, Montgomery M. Possible Trimethoprim–Sulfamethoxazole-Induced Hemolytic Anemia: A Case Report. *Journal of Pharmacy Practice*. 2017;30:653–7. DOI: <https://doi.org/10.1177/0897190016683303>
113. Adams JG. Sulfonamide-Induced Hemolytic Anemia and Hemoglobin Hasharon. *Arch Intern Med* 1977;137:1449. Web: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/921425/>
114. Beutler E. The Hemolytic Effect of Primaquine and Related Compounds: a Review. *Blood*. 1959;14:103–39. [DOI: 10.1182/blood.V14.2.103.103](https://doi.org/10.1182/blood.V14.2.103.103)
115. Taylor WRJ, Thriemer K, von Seidlein L, Yuentrakul P, Assawariyathipat T, Assefa A, et al. Short-course primaquine for the radical cure of *Plasmodium vivax* malaria: a multicentre, randomised, placebo-controlled non-inferiority trial. *The Lancet* 2019;394:929–38. [DOI: 10.1016/S0140-6736\(19\)31285-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)31285-1)
116. Tishler M. Phenazopyridine-Induced Hemolytic Anemia in a Patient with G6PD Deficiency. *Acta Haematol*. 1983;70:208–9. [DOI: 10.1159/000206727](https://doi.org/10.1159/000206727)
117. Itty R, Chopra A. Phenazopyridine: A Large Price To Pay For Pain Relief. *Chest* 2019;156:A1871. <https://journal.chestnet.org/issues>
118. Rojas J, Añez R, Martínez M, Chacín M, Salazar J, Calvo M. A tale about perfect partners: New horizons in glimepiride and metformin Mechanisms of action. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*. 2016 35(2):53-66. DOI: [http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S079802642016000200004&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S079802642016000200004&script=sci_abstract&tlng=pt)
119. Kirkiz S, Yarali N, Arman Bilir O, Tunc B. Metformin-Induced Hemolytic Anemia. *Med PrincPract*. 2014;23:183–5. [DOI: 10.1159/000356149](https://doi.org/10.1159/000356149)
120. Meir A, Kleinman Y, Rund D, Da'as N. Metformin-Induced Hemolytic Anemia in a Patient With Glucose-6- Phosphate Dehydrogenase Deficiency. *Diabetes Care* 2003;26:956–7. [DOI: 10.2337/diacare.26.3.956](https://doi.org/10.2337/diacare.26.3.956).
121. Wu S, Wu G, Wu H. Hemolytic jaundice induced by pharmacological dose ascorbic acid in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: A case report. *Medicine*. 2018;97:e13588. [DOI: 10.1097/MD.00000000000013588](https://doi.org/10.1097/MD.00000000000013588)
122. Rees DC, Kelsey H, Richards JD. Acute haemolysis induced by high dose ascorbic acid in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *BMJ* 1993;306:841–2. [DOI: 10.1136/bmj.306.6881.841](https://doi.org/10.1136/bmj.306.6881.841)

123. Nguyen AP, Ness GL. Hemolytic anemia following rasburicase administration: a review of published reports. *J PediatrPharmacolTher.* 2014;19:310–6. DOI: [10.5863/1551-6776-19.4.310](https://doi.org/10.5863/1551-6776-19.4.310)
124. Bauters T, Mondelaers V, Robays H, De Wilde H, Benoit Y, De Moerloose B. Methemoglobinemia and hemolytic anemia after rasburicase administration in a child with leukemia. *Int J Clin Pharm*2011;33:58–60. DOI: [10.1007/s11096-011-9484-3](https://doi.org/10.1007/s11096-011-9484-3)
125. Gilbertson C, Jones DR. Haemolyticanaemia with nalidixic acid. *BMJ.* 1972;4:493–493. DOI: [10.1136/bmj.4.5838.493-a](https://doi.org/10.1136/bmj.4.5838.493-a)
126. Margaret Belton E, Vaughan Jones R. HÆMOLYTIC ANÆMIA DUE TO NALIDIXIC ACID. *The Lancet* 1965;286:691. Web: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4158226/>
127. Liao Y-P, Hung D-Z, Yang D-Y. Hemolytic anemia after methylene blue therapy for aniline-induced methemoglobinemia. *Vet Hum Toxicol.* 2002;44:19–21. DOI: <https://europepmc.org/article/med/11824767>
128. Goluboff N, Wheaton R. Methylene blue induced cyanosis and acute hemolytic anemia complicating the treatment of methemoglobinemia. *TheJournalofPediatrics*1961;58:86–9. DOI: [10.1016/s0022-3476\(61\)80064-4](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(61)80064-4)
129. Lee SM, Geetha D. Dapsone induced hemolysis in a patient with ANCA associated glomerulonephritis and normal G6PD level and implications for clinical practice: case report and review of the literature. *Springerplus.* 2015;4:29. DOI: [10.1186/s40064-015-0816-y](https://doi.org/10.1186/s40064-015-0816-y)
130. Tiono AB, Dicko A, Ndububa DA, Agbenyega T, Pitmang S, Awobusuyi J, et al. Chlorproguanil-dapsone-artesunate versus chlorproguanil-dapsone: a randomized, double-blind, phase III trial in African children, adolescents, and adults with uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Am J Trop Med Hyg*2009;81:969–78. DOI: [10.4269/ajtmh.2009.09-0351](https://doi.org/10.4269/ajtmh.2009.09-0351)
131. Van Malderen C, Van Geertruyden J-P, Machevo S, González R, Bassat Q, Talisuna A, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, chlorproguanil-dapsone with artesunate and post-treatment haemolysis in African children treated for uncomplicated malaria. *Malar J* 2012;11:139. DOI: [10.1186/1475-2875-11-139](https://doi.org/10.1186/1475-2875-11-139)
132. J. Blanquicett C, Raavi T, M. Robert S. A Severe Episode of Hemolytic Anemia After Amoxicillin Exposure in A G6PD Deficient Patient. *Arch Clin Med Case Rep* 2019;03. DOI: [10.26502/acmcr.96550068](https://doi.org/10.26502/acmcr.96550068)
133. Grace RF, Glader B. Red Blood Cell Enzyme Disorders. *Pediatric Clinics of North America* 2018;65:579–95. DOI: [10.1016/j.pcl.2018.02.005](https://doi.org/10.1016/j.pcl.2018.02.005)
134. Joseph T. DiPiro et al. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, 10e. McGraw-Hill Medical n.d. Web: <https://accesspharmacy.mhmedical.com/book.aspx?bookID=1861>
135. Padayatty S, Levine M. Vitamin C: the known and the unknown and Goldilocks. *Oral Dis.* 2016;22:463–93. DOI: [10.1111/odi.12446](https://doi.org/10.1111/odi.12446)
136. Montel-Hagen A, Kinet S, Manel N, Mongellaz C, Prohaska R, Battini J-L, et al. Erythrocyte Glut1 Triggers Dehydroascorbic Acid Uptake in Mammals Unable to Synthesize Vitamin C. *Cell.* 2008;132:1039–48. DOI: [10.1016/j.cell.2008.01.042](https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.01.042)
137. Nualart FJ, Rivas CI, Montecinos VP, Godoy AS, Guaiquil VH, Golde DW, et al. Recycling of Vitamin C by a Bystander Effect. *J Biol Chem.* 2003;278:10128–33. DOI: [10.1074/jbc.M210686200](https://doi.org/10.1074/jbc.M210686200)
138. May JM, Qu Z, Cobb CE. Human Erythrocyte Recycling of Ascorbic Acid: Relative Contributions From The Ascorbate Free Radical And Dehydroascorbic Acid. *J Biol Chem.* 2004;279:14975–82. DOI: [10.1074/jbc.M312548200](https://doi.org/10.1074/jbc.M312548200)

139. Bowman ZS, Oatis JE, Whelan JL, Jollow DJ, McMillan DC. Primaquine-Induced Hemolytic Anemia: Susceptibility of Normal versus Glutathione-Depleted Rat Erythrocytes to 5-Hydroxyprimaquine. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004;309:79–85. [DOI: 10.1124/jpet.103.062984](https://doi.org/10.1124/jpet.103.062984)
140. Jollow DJ, Bradshaw T p., Mcmillan DC. Dapsone-Induced Hemolytic Anemia. *Drug Metabolism Reviews*. 1995;27:107–24. [DOI: 10.3109/03602539509029818](https://doi.org/10.3109/03602539509029818)
141. Molinelli E, Paolinelli M, Campanati A, Brisigotti V, Offidani A. Metabolic, pharmacokinetic, and toxicological issues surrounding dapsone. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. 2019;15:367–79. [DOI: 10.1080/17425255.2019.1600670](https://doi.org/10.1080/17425255.2019.1600670)
142. Sanders SW. Hemolytic Anemia Induced by Dapsone Transmitted Through Breast Milk. *Ann Intern Med*. 1982;96:465. [DOI: 10.7326/0003-4819-96-4-465](https://doi.org/10.7326/0003-4819-96-4-465).
143. Garratty G. Immune hemolytic anemia associated with drug therapy. *Blood Reviews* 2010;24:143–50. [DOI: 10.1016/j.blre.2010.06.004](https://doi.org/10.1016/j.blre.2010.06.004)
144. Chahin R. Interacciones medicamentosas en pacientes hospitalizados en el Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario “Dr. Ángel Larralde”. Junio 2014 - Diciembre 2015. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*. 2016;35(1);1-6. Web: [http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0798-02642016000100001&script=sci\\_abstract](http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0798-02642016000100001&script=sci_abstract)