

Efecto oxidativo de la anemia ferropénica severa en ratas Wistar machos recién destetadas

Oxidative effect of severe iron deficiency anemia in male just-weaned Wistar rats

DraC. Yenela García Hernández,^I MSc. Alain Morejón Calderón,^{II} Dr. Virgilio Bourg Llamo^{II}

^I Laboratorio de Reconstituyentes. Centro Nacional de Biopreparados (BioCen). Mayabeque, Cuba.

^{II} Departamento de ensayos biológicos. Centro Nacional de Biopreparados (BioCen). Mayabeque, Cuba.

RESUMEN

Introducción: el proceso fisiológico que conlleva a la anemia nutricional por deficiencia de hierro, incluye el agotamiento de los depósitos del mineral, la disminución del aporte de hierro a la síntesis de eritrocitos y al final ocurre una disminución de la concentración de hemoglobina en sangre. Algunos estudios han demostrado que durante la condición de anemia por deficiencia de Fe se incrementa la susceptibilidad de los tejidos al daño oxidativo, mientras que otros refieren no haber encontrado diferencias entre personas sanas y anémicas.

Objetivo: determinar el efecto oxidativo que ocasiona la anemia ferropénica severa inducida en un modelo experimental de ratas.

Métodos: se utilizaron ratas Wistar machos recién destetadas que fueron alimentadas durante 45 días, con una dieta purificada que contenía caseína como fuente de proteínas. Los animales se distribuyeron en dos grupos de siete, uno de ellos recibió una dieta deficiente en hierro

(18 mg/kg) y el otro recibió una dieta de contenido normal en hierro (42 mg/kg).

Resultados: en la mucosa del duodeno, que es donde se produce la absorción intestinal de hierro, el daño oxidativo a los lípidos y a las proteínas, fue mayor en el grupo control que recibió la dieta de contenido normal en hierro, mientras que en el hígado el daño oxidativo fue mayor en los animales anémicos ($p < 0,05$). El aumento del daño oxidativo a nivel del hígado de los animales anémicos se explica por el movimiento del mineral, desde éste órgano hasta los tejidos eritroides para suplir la disminución de la absorción intestinal del mineral que ocasiona la deficiencia de Fe en

la dieta. Este trabajo muestra otro de los efectos adversos que ocasiona la condición de anemia severa por deficiencia de Fe.

Conclusiones: la condición de anemia ferropénica severa en ratas, genera como efecto adverso colateral el daño oxidativo a nivel del hígado.

Palabras claves: anemia, efecto oxidativo, rata.

ABSTRACT

Introduction: the physiological process leading to nutritional iron deficiency anemia involves the depletion of mineral deposits, a decrease in the supply of iron for erythrocyte synthesis, and finally a reduction in the concentration of blood hemoglobin. Some studies have shown increased tissue susceptibility to oxidative damage in iron deficiency anemia, while others do not report any difference between healthy and anemic persons.

Objective: Determine the oxidative effect of severe iron deficiency anemia in a rat experimental model.

Methods: male just-weaned Wistar rats were fed for 45 days a purified diet based on casein as a source of proteins. Two groups were formed, each with seven animals. One group received an iron deficient diet (18 mg/kg) and the other a diet with normal iron content (42 mg/kg).

Results: in the control group receiving a diet with normal iron content, oxidative damage to lipids and proteins was greater at the duodenal mucosa, the area where the intestinal absorption of iron takes place. In anemic animals, oxidative damage was greater in the liver ($p < 0.05$). Increased oxidative damage to the liver in anemic animals is explained by the movement of mineral from this organ to erythroid tissue to make up for the reduction in intestinal absorption of the mineral caused by the iron deficient diet. The study shows one more of the adverse effects of severe iron deficiency anemia.

Conclusions: oxidative damage in the liver is an adverse side effect of severe iron deficiency anemia in rats.

Key words: anemia, oxidative effect, rat.

INTRODUCCIÓN

La anemia de origen nutricional es el problema de salud pública más extendido en el mundo y según *Sant-Ryan*, afecta a más de 1 600 millones de personas; la mayoría embarazadas y los niños pequeños.¹ La deficiencia de hierro (Fe) es considerada el factor de mayor influencia en la extensión de la prevalencia de la anemia.² La prevalencia de anemia de los niños entre 0 y 5 años de edad en las provincias orientales de Cuba es del 26 %, aunque predominan los casos de anemia leve o moderada.³

El proceso fisiológico que conlleva a la anemia de origen nutricional por deficiencia de Fe se inicia a nivel del intestino proximal o duodeno, cuando se produce un desbalance entre la cantidad de Fe requerido para suplir las necesidades fisiológicas del mineral y el absorbido. Esta situación conlleva a que disminuya el aporte de Fe proveniente de la dieta, a la síntesis de los precursores eritroides en la médula ósea. En una segunda etapa se produce un agotamiento de las reservas del mineral, las cuales se localizan en lo fundamental en el hígado; ocurre una disminución de los niveles de hemoglobina (Hb) en sangre por debajo de lo considerado fisiológicamente normal.⁴

Se conoce que durante la suplementación con preparados de Fe para prevenir y tratar la anemia, se estimula el movimiento de Fe en varios tejidos y órganos del organismo. Este proceso incrementa el riesgo de generar daño oxidativo por la elevada reactividad del mineral.⁵ Sin embargo, los organismos vivos se protegen del daño oxidativo intervenido por Fe mediante varios mecanismos, como es; la participación de proteínas secuestradoras de Fe, aumentando la absorción intestinal o por la acción combinada de los mecanismos enzimáticos endógenos. Cuando se produce un desbalance entre la formación y la neutralización de prooxidantes, como resultado de un incremento en la generación de especies reactivas del O₂ (EROs), una disminución de los sistemas de protección antioxidante o un fallo en la reparación del daño oxidativo, se presenta el estrés oxidativo.⁶

Por otra parte, se conoce que la propia condición anémica puede generar daño oxidativo, aunque los resultados obtenidos han sido controversiales. Algunos autores han reportado que durante la condición de anemia por deficiencia de Fe se incrementa la susceptibilidad de las células al daño oxidativo,^{7,8} mientras que otros refieren no haber encontrado diferencias entre los individuos sanos y los anémicos.⁹ En el modelo de ratas anémicas se ha obtenido que la anemia no afectó la actividad de los sistemas antioxidantes endógenos en la fracción citoplasmática de células de eritrocitos y del hígado.¹⁰ Sin embargo, la medición de la actividad de los sistemas antioxidantes endógenos no es suficiente para corroborar el efecto oxidativo de la anemia. El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto oxidativo que ocasiona la condición de anemia ferropénica severa en las proteínas y los lípidos de órganos que juegan un papel importante durante el proceso fisiológico, que origina la anemia, como es el intestino proximal y el hígado.

MÉTODOS

Animales

Se utilizaron ratas Wistar machos recién destetadas (n=14) de 40 a 45 g que fueron suministradas por CENPALAB, Habana, Cuba. El protocolo del experimento fue aprobado por el Comité Institucional de Ética para el Cuidado y uso de los Animales de Laboratorio (CIEQUAL) del BIOCEN.

Diseño experimental

Se preparó una dieta purificada de caseína como única fuente de proteínas, se tomó de referencia la dieta AIN-93G.¹¹ De esta dieta se preparó una variante que fue suplementada con 35 mg/kg de Fe en forma de fumarato ferroso (dieta control) y otra que no recibió suplementación con Fe (dieta deficiente).

En ambas dietas se determinó el contenido de Fe por espectroscopía de absorción atómica a partir de muestras de 1 g por triplicado previamente secas que fueron mineralizadas por el método húmedo. Para ello se realizó la digestión con HNO₃ al 65 % a una temperatura de 50 a 60 °C hasta la aparición de vapores de NO₂. En conclusión, se elevó la temperatura entre 70 y 80 °C y se le adicionó una mezcla de HClO₄/HNO₃ en una relación de volumen de 1:4 hasta que se obtuvo una solución blanquecina y traslúcida que se dejó enfriar hasta alcanzar temperatura ambiente de 25 ± 2 °C, la cual en lo posterior se filtró. Al filtrado resultante se le adicionó agua destilada hasta completar un volumen de 25 mL. (tabla 1).

Tabla 1. Composición de las dietas experimentales

Componentes (g/kg)	Dieta control	Dieta deficiente en Fe
Caseína	200	200
Almidón de Maíz	530	530
Sacarosa	123	123
Suplemento vitamínico*	10	10
Suplemento mineral†	35	35
Aceite de soya	50	50
Cistina	2	2
Celulosa	50	50
Fumarato ferroso (mg/kg)	35	-

*,† Ambos suplementos se prepararon según la dieta AIN-93G.¹¹

En el caso del suplemento mineral para la dieta control, se suplementó con fumarato ferroso de manera que la concentración de Fe fue de 1000 mg/kg. Mientras que el suplemento mineral de la dieta deficiente no recibió suplementación con Fe. Los animales se alojaron en cajas de polipropileno con piso de rejillas de acero inoxidable en condiciones ambientales controladas de temperatura de 22 ± 2 °C y humedad de 55 ± 5 %, así como ciclos alternantes de luz/oscuridad de 12 h. Se midió el peso corporal inicial y se tomaron muestras de sangre del plexo retrorbital, en los animales previos anestesiados con pentobarbital sódico vía intraperitoneal (i.p) a 0,5 mg/g de peso. Se determinó la concentración de hemoglobina (Hb) en sangre por el método de *Drabkin*.¹²

Se conformaron dos grupos de siete animales cada uno, que fueron distribuidos aleatoriamente de manera que no existieron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre la concentración de Hb promedio entre ambos. Uno de los grupos fue tratado con la dieta control (control sin anemia) y el otro con la dieta deficiente en Fe para inducir la anemia ferropénica severa (anémico), acorde al método previo desarrollado por *García*.¹³ El período experimental (PE) se extendió por 45 días y los animales recibieron agua destilada acidulada con HCl al 37 % a pH 2 y alimento *ad libitum*. Se utilizó como punto de corte de la anemia, que la concentración de Hb disminuyera como mínimo en un 30 % de la concentración de Hb, promedio inicial del grupo que recibió la dieta deficiente en Fe.

Recolección y procesamiento de las muestras biológicas

Al finalizar el PE los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico y se les extrajo sangre por el plexo retrorbital para cuantificar la concentración de Hb¹² y al final fueron sacrificados por dislocación cervical. Se extrajo el hígado, se lavó con solución salina (NaCl 0,9 g por 100 mL), a una temperatura de 2 a 8 °C para eliminar los restos de sangre y se conservó en un baño de hielo. También, se extrajeron unos 10 cm de intestino proximal, el cual se enjuagó con solución salina para eliminar los restos de alimentos. A continuación, se procedió a raspar con cuidado la mucosa del fragmento de intestino proximal disecado, la cual se conservó en un baño de hielo.

Se tomó el lóbulo mayor del hígado y se cortó en fragmentos más pequeños con una tijera de acero inoxidable. Se le adicionó en una proporción 1:10 (m/v) un tampón a pH 7,6 que contenía: sacarosa 0,32 M, Tris 10 mM, EDTA 1 mM y albúmina de suero bovino (BSA) al 0,4 %. A la postre, se obtuvieron los homogenados con un disruptor de tejidos con pistón de acero inoxidable. En el caso de raspar la mucosa intestinal se le adicionó al tejido el mismo tampón pero sin BSA, y en una proporción 1:5. Durante todo el proceso las muestras fueron conservadas en un baño de hielo. Los homogenados de tejidos fueron centrifugados a 3 000 g a 4 °C y el sobrenadante de la centrifugación se conservó en alícuotas de 1 mL a -80 °C.¹⁴

En el resto del hígado se determinó el peso seco por el método gravimétrico. La fracción de tejido seca fue digerida con una solución de HCl a 2M e incubación a 80 °C por 90 min. Después, se precipitaron las proteínas con ácido tricloacético al 4 % y en el sobrenadante resultante, se midió el contenido de Fe a partir de la reacción colorimétrica entre la 1,10 fenantrolina y el Fe⁺² que fue reducido por la acción del cloruro de hidroxilamonio. En último lugar se leyó la absorbancia (ABS) a 510 nm en un espectrofotómetro uv/visible, y se calculó el contenido de Fe por g de peso seco de hígado.¹⁵

En las fracciones de ambos tejidos procesados se midió la concentración total de proteínas por el método de *Lowry* modificado para tejidos biológicos.¹⁶ El efecto oxidativo sobre los lípidos se analizó a partir de las Especies Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico (ERATB).¹⁷ La concentración de ERATB se calculó a partir del coeficiente de extinción molar (ξ) del malondialdehído ($1,56 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$) y el resultado se expresó como nanomoles por miligramos de proteínas. También se midió el daño oxidativo a las proteínas por el método de *Resnick y Parker*¹⁸ a partir de la detección espectrofotométrica de la reacción de la 2,4 dinitrofenilhidracina con los grupos carbonilos que forman la hidracina, cuya ABS máxima se leyó a 360 nm. La concentración de carbonilos se determinó a partir del ξ de la hidracina ($22\,000 \text{ nM cm}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$).

Análisis estadístico

Se utilizó el software SPSS versión 19.0, 2010. Se analizó el comportamiento de las variables entre dos grupos por una prueba de *t* de *Student*'s. En todos los casos se utilizó un nivel de significación de $p < 0,05$.

RESULTADOS

La dieta control tuvo un contenido de Fe de 42 mg/kg, mientras que en la dieta deficiente fue de 18 mg/kg. Al término del PE de 45 d todos los animales cumplieron con el criterio de aceptación de la anemia ya que la concentración de Hb final promedio del grupo tratado con la dieta deficiente en Fe fue $\leq 63,78 \text{ g.L}^{-1}$ que correspondía al 70 % de la concentración de Hb inicial promedio del grupo (tabla 2). El efecto de la anemia se evidenció también en el peso corporal y en la concentración de Fe en hígado ya al finalizar el PE ambos indicadores disminuyeron en el grupo anémico ($p < 0,001$).

Tabla 2. Concentración de Hb y el peso corporal en ratas Wistar machos recién destetadas que fueron tratadas durante 45 días con una dieta control o deficiente en Fe

Parámetros	Control sin anemia (n=7)	Anémico (n=7)
Conc. Hb (g.L^{-1}) inicio	91,26 \pm 2,59 ^a	91,11 \pm 2,26 ^a
Conc. Hb (g.L^{-1}) 45 d	142,71 \pm 2,43 ^a	30,08 \pm 2,12 ^b
Peso corporal (g) inicio	44,43 \pm 2,34 ^a	43,99 \pm 2,60 ^a
Peso corporal (g) 45 d	249,67 \pm 2,66 ^a	176,17 \pm 2,48 ^b
Fe en hígado ($\mu\text{g/g}$ peso seco)	278,89 \pm 62,53 ^a	190,80 \pm 60,71 ^b

^{a,b} Diferencias significativas entre grupos para cada parámetro según la prueba de *t* de *student*'s ($p < 0,05$).

Para evaluar el efecto oxidativo que podía producir la condición anémica se evaluó el raspado de mucosa intestinal, donde se obtuvo que el daño a las proteínas y a los lípidos fue menor en el grupo anémico que en el grupo control sin anemia ($p < 0,001$ para los lípidos y $p < 0,05$ para las proteínas) (figura). En el hígado ocurrió lo contrario, el daño oxidativo a las proteínas y los lípidos fue mayor en el grupo anémico que en el grupo control sin anemia ($p < 0,001$).

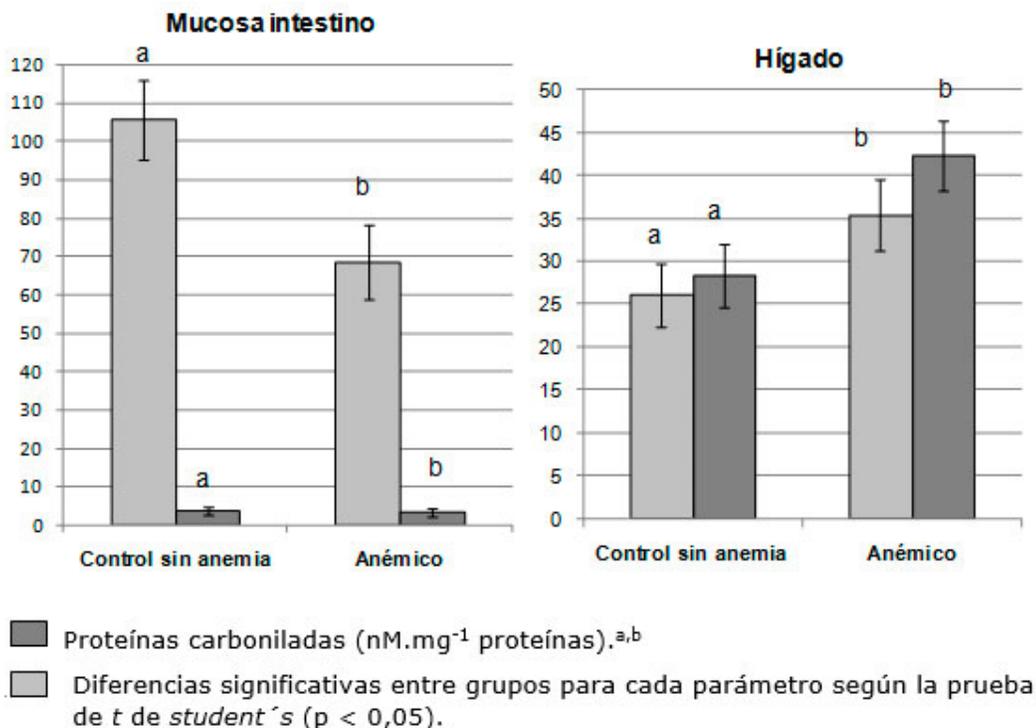


Fig. Efecto oxidativo de la anemia en las proteínas y los lípidos de la mucosa intestinal y el hígado. ERATB (nM MDA.mg⁻¹ proteínas).

DISCUSIÓN

Para la prevención y el tratamiento de la anemia por deficiencia de Fe se utilizan abundante preparados de Fe iónico, los cuales se presentan en lo fundamental como sulfato ferroso o como fumarato ferroso y ocasionan reacciones adversas gastrointestinales en más del 30 % de las personas que los utilizan.¹⁹ Por otra parte, para que el Fe en forma iónica pueda ser absorbido a nivel intestinal, debe estar presente único como ion Fe⁺², lo cual es mediado por el transportador intestinal de metales divalentes (DMT1).⁴ Sin embargo, la presencia del ion Fe⁺² a nivel intestinal puede conducir a que participe como catalizador en la reacción de Fenton, la cual origina el radical libre hidroxilo (OH[·]) que es muy reactivo y puede dañar tanto a los lípidos, las proteínas o el ADN.²⁰

El resultado obtenido de que en el grupo anémico fue menor el efecto oxidativo sobre las proteínas y los lípidos, con respecto al grupo control que recibió la dieta con contenido normal en Fe (ver figura), se puede explicar por la presencia de Fe en forma de fumarato ferroso con lo que se suplementó esta dieta, del cual puede haberse destinado una parte a generar el radical OH[·] y a dañar las proteínas y los lípidos a nivel de ese tejido. Ese resultado lo avala el hecho de que en el modelo experimental de anemia, se ha obtenido que con dietas purificadas de caseína, que son suplementadas con la misma cantidad de Fe, al que se utilizó en este trabajo (35 mg/kg) pero en forma de sulfato ferroso, a partir de los 14 días de tratamiento se ha logrado una recuperación adecuada de la condición anémica.¹³ Estos resultados permiten suponer que al utilizar la misma dosis del mineral en el caso del animal sano, queda disponible una parte que no es utilizada en cubrir los requerimientos

nutricionales, para participar en reacciones oxidativas. Este elemento constituye una limitación del modelo animal de ratas con anemia, que difiere de lo que tiene lugar en el humano donde está establecido una diferencia entre los requerimientos fisiológicos del mineral y la dosis terapéutica necesaria para la recuperación de la condición anémica, es en esta última una dosis de Fe mayor.¹⁻³

Es conocido que el hígado es el principal órgano de reserva de Fe en los organismos,²¹ por lo tanto, durante el desarrollo de la condición anémica, mientras se suplementó a los animales con la dieta deficiente en Fe en este tejido, se produce una movilización importante de mineral para contrarrestar el aporte insuficiente en la dieta, que conllevó a una disminución de la absorción intestinal. En este órgano el Fe es almacenado en su forma oxidada (Fe^{+3}) como ferritina o hemosiderina, pero cuando es necesario su movilización para ser transportado por la transferrina plasmática hasta los tejidos eritroides para participar en la síntesis de eritrocitos el mineral se presenta como Fe^{+2} a nivel del citoplasma celular. De este modo se supone que una parte del Fe^{+2} pueda participar en la reacción oxidativa que genera el radical OH^{\cdot} y eso explique que en el grupo anémico el daño oxidativo a las proteínas y a los lípidos fue mayor a nivel de ese órgano (ver [figura](#)). Por otra parte, esta hipótesis de la movilización mayor de las reservas de Fe a nivel del hígado durante el desarrollo de la anemia está avalada porque en este grupo fue menor el contenido de Fe hepático ([tabla 2](#)).

Este trabajo demostró que durante el proceso fisiológico que conlleva a la anemia ferropénica severa, debido a la movilización de las reservas de Fe que se produce en el hígado se genera un daño oxidativo a las biomoléculas como las proteínas y los lípidos que conforman el tejido hepático, mediado por la estimulación de la producción del radical OH^{\cdot} a partir de presentarse mayor disponibilidad del ion Fe^{+2} . La utilidad de estos resultados, obtenidos en el modelo experimental de anemia ferropénica severa en ratas, con respecto a la salud humana es que muestra otro de los efectos adversos que puede generar la anemia, y este hallazgo refuerza la necesidad de combatir y prevenir la prevalencia del trastorno nutricional que en la actualidad se extiende de manera creciente tanto en países desarrollados como subdesarrollados.¹⁻²

AGRADECIMIENTOS

Al técnico en veterinaria *Julio S. Pérez Marrero* del Departamento de Ensayos Biológicos por el cuidado y manejo de los animales. También, a las técnicas en química industrial *Yenisleydis Revilla Fernández* y *Lais Pérez Pérez* del Laboratorio de Reconstituyentes por su participación en el procesamiento y análisis de las muestras de tejidos biológicos que se extrajeron de los animales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sant-Rayn P, Drakesmith H, Black J, Hipgrave D, Berveley-Ann B. Control of iron deficiency anemia in low-and middle-income countries. *Blood*. 2013;121(14):2607-17.
2. Kassebaum NJ, Jasrasaria R, Lozano R, Eisele tP, Brooker SJ, Naghavi M, et al. A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. *Blood*. 2014;123(5):615-24.

3. Pita GM, Jiménez S, Basabe B, García RG, Macías C, Selva L, et al. Anemia in Children under Five Years Old in Eastern Cuba, 2005–2011. *MEDICC Review*. 2014;16(1):16-23.
4. Geissler C, Singh M. Iron, Meat and Health. *Nutrients*. 2011;3:283-316.
5. Koskenkorva-Frank TS, Weiss G, Koppenol WH, Burckhardt S. The complex interplay of iron metabolism, reactive oxygen species, and reactive nitrogen species: insights into the potential of various iron therapies to induce oxidative and nitrosative stress. *Free Radic Biol Med*. 2013;65:1174-94.
6. Halliwell B. Role of free radicals in neurodegenerative diseases: therapeutic implication for antioxidant treatment. *Drugs Aging*. 2001;18:685-716.
7. Aslan M, Horoz M, Kocyigit A, Ozgomel S, Celik H, Erel O. Lymphocyte DNA damage and oxidative stress in patients with iron deficiency anemia. *Mut Res*. 2006;601:144-49.
8. Yoo JH, Maeng HY, Sun YK, Kim YA, Park DW, Park TS, et al. Oxidative status in iron-deficiency anemia. *J Clin Lab Anal*. 2009;23(5):319-23.
9. Isler M, Delibas N, Guclu M, Gultekin F, Sutcu R, Bahceci M, et al. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase in erythrocytes of patients with iron deficiency anemia: effects of different treatment modalities. *Croat Med J*. 2002;43:16-9.
10. Alférez MJ, Díaz-Castro J, López-Aliaga I, Pérez-Sánchez LJ, Campos MS. Development of nutritional Iron deficiency in growing male rat: haematological parameters, iron bioavailability and oxidative defense. *Br J Nutr*. 2011;105:517-25.
11. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition and Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*. 1993;123:1939-51.
12. International Council for Standardization in Haematology. Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood (ICSH standard 1995) and specifications for international haemoglobincyanide standard (4th edition). *J Clin Pathol*. 1996;49:271-4.
13. García Y, Díaz-Castro J, López-Aliaga I, Alférez M, Ramos A, Campos MS. Bioavailability of Fe, Cu and Zn and antioxidant defense in anemic rat supplemented with a mixture of heme/non heme Fe. *J Food Nutr Res*. 2013;52(2):128-38.
14. DeSandro V, Chevrier M, Boddaert A, Melcion C, Cordier A, Richiert L. Comparison of the effects of propylthiouracil, amiodarone, diphenyl hydantoin, phenobarbital and 3 methylcholanthrene on hepatic and renal T4 meta bolism and thyroid gland function in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1991;111:263-78.
15. Barry M, Sherlock S. Measurement of liver iron concentration in needle biopsy specimens. *Lancet*. 1971;i:100-3.
16. Marxwell MA, Haas SM, Beiber LL, Tolbert NE. A modification of the Lowry procedure to simplify protein in membrane lipoprotein samples. *Anal Biochem*. 1987;87:206-9.

17. Okhawa O, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by the thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979;95(2):351-8.
18. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: Spectrophometric method for carbonyl assay. *Methods Enz.* 1994;233:357-63.
19. Cancelo-Hidalgo MJ, Castelo-Blanco C, Palacios S, Hava-Palazuelos J, Ciria-Recasens M, Manasanch J, et al. Tolerability of different oral iron supplements: a systematic review. *Curr Med Res Opin.* 2013;29(4):291-03.
20. Jomova K, Valko M. Advances in metal induced oxidative stress and human diseases. *Toxicology.* 2011;283:65-87.
21. Khan AA, Quigley JG. Control of intracellular heme levels: Heme transporters and Heme oxygenases. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1813(5):668-82.

Recibido: 14 de enero de 2015.
Aprobado: 22 de enero de 2015.

Yenela García Hernández. Laboratorio de Reconstituyentes. Centro Nacional de Biopreparados (BioCen). Carretera Beltrán km 1,5 Bejucal, número 32 600. Mayabeque, Cuba.
Correo electrónico: yenela@biocen.cu