

## Expresión de los mRNAs de ferritina y del receptor a la transferrina en pulmones de niños residentes de la ciudad de México y provincia

Gabriela Miguel-Pérez<sup>1</sup>, David Villeda-Cuevas<sup>1</sup>,  
Marco Daniel Fernandez-Castillo<sup>1</sup>, Francisco Arenas-Huertero<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Simón Bolívar

<sup>2</sup>Hospital Infantil de México "Federico Gómez"

### Resumen

*El pulmón es el órgano que entra en contacto con el aire, maneja el intercambio gaseoso; así el hierro se convierte en un pro-oxidante en las células pulmonares. La altitud y la presencia de oxidantes provocan alteraciones en su metabolismo. Los niños son los más susceptibles a los cambios en el ambiente. Sin embargo, no se conoce si el metabolismo del hierro se altere en niños que viven en diferentes atmósferas. El objetivo del trabajo fue documentar la expresión de algunos genes del metabolismo del hierro, en pulmones de niños residentes de la ciudad de México (CM) y provincia (Prov). Se evaluó por RT-PCR la expresión del receptor a la transferrina (TfR) y de la ferritina (Fer). Los resultados mostraron un incremento en la expresión del TfR y de la Fer en los residentes de la CM: 1.8 y 1.5 veces más, respectivamente, de las observadas en residentes de Prov. La diferencia fue significativa sólo para la expresión del TfR:  $1.04 \pm 0.385$  vs  $0.703 \pm 0.350$ , para CM y Prov, respectivamente ( $p < 0.05$ ). Estos resultados por primera vez demuestran un incremento en la expresión de un par de genes que participan en el metabolismo del hierro en pulmón de niños mexicanos.*

**Palabras clave:** Aire, pulmón, receptor de transferrina, ferritina, hierro.

### Abstract

*Air is the element that is in direct contact into the lung. It performs the interchange of gases, and iron can turn on pro-oxidant and affect lung cells. Altitude and the presence of oxidants can perturb its metabolism. Children are most susceptible to the effects of changes in the environment. However, we don't know if the metabolism of iron can be altered in children living in different atmospheres. The objective of this study was document the expression of some genes of the iron metabolism in lung tissue of children of both Mexico City dwellers (MCD) and outside residents (OR). The mRNA expression of transferrin receptor (TfR) and ferritin (Fer) were evaluated by RT-PCR. Results showed an increase in their expression of TfR and Fer in MCD group: 1.8-, and 1.5-fold, respectively, against to observed in OR. The expression of the TfR was  $1.04 \pm 0.385$  in MCD and was higher than OR,  $0.703 \pm 0.350$ , these differences were significant. These results for first time demonstrated an increase of expression of genes that participate in the iron metabolism of the lung in Mexican children.*

**Key words:** Air, lung, transferring receptor, ferritin, iron.

## Introducción

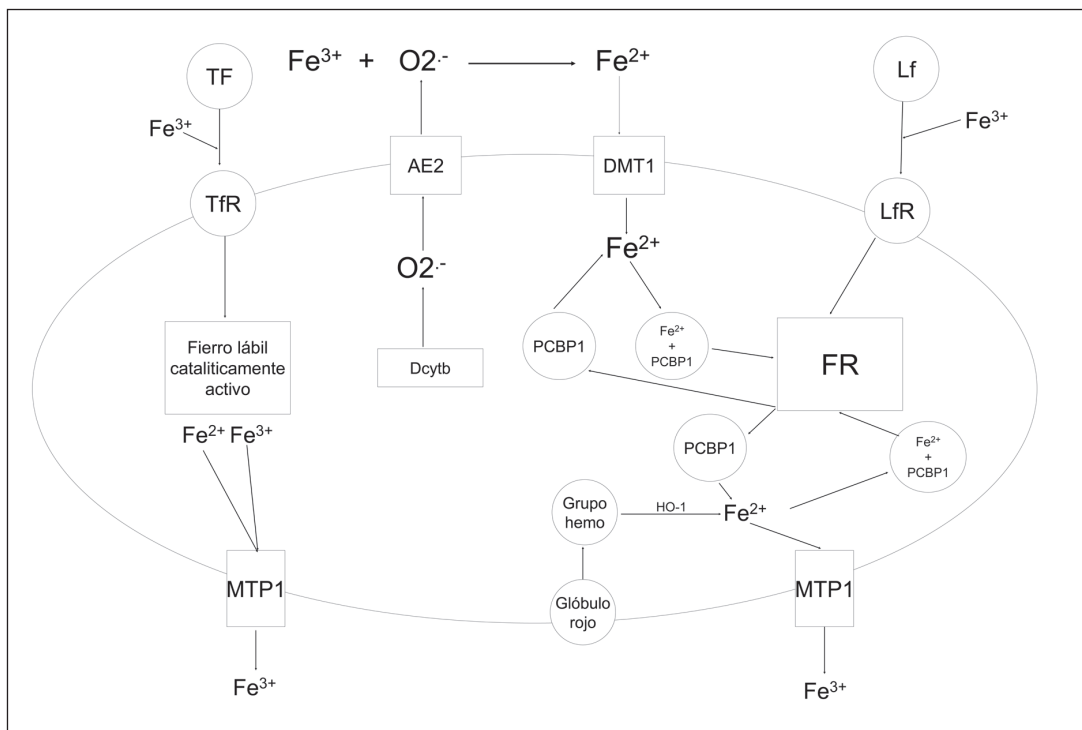
### Fuentes de hierro respirable

La atmósfera terrestre es el medio por el cual se distribuyen los metales alrededor de la superficie terrestre, y las actividades humanas tienen un gran impacto en el ciclo de estos metales tanto de manera regional como global (De la Cerda, 1990). El hierro es el metal de transición más abundante en la corteza terrestre, tanto en zonas rurales como urbanas (Ghio et.al, 2006). Se ha asociado el hierro contenido en la matriz y en la superficie de las fibras de asbestos a la inducción de problemas pulmonares por el estrés oxidativo generado (Ghio et.al, 2008). Al igual que en el caso de las fibras de vidrio y las de cerámica refractaria mineral (Gilmour et.al, 1997), el humo del cigarro (Mayo et.al., 2004) y el humo de soldadura (Kalliomäki et.al, 1979). Todos estos contaminantes se encuentran en gran medida tanto en las fracciones de las partículas suspendidas totales, conocidas como PM10 (menores de 10  $\mu\text{m}$ ), PM2.5 (menores de 2.5  $\mu\text{m}$ ) (Zelikoff et.al., 2002) y en los polvos (Gurgueira et.al., 2002).

### Modelo del metabolismo del hierro en el pulmón

Debido a que no existe un mecanismo de eliminación del hierro en exceso contenido en los pulmones, estos han desarrollado una vía para almacenarlo en una forma menos reactiva: y es acumularlo como ferritina (Fer) (Turi et.al., 2004). Algunas proteínas como la transferrina (Tf), receptor de transferrina (TfR), lactoferrina (Lf), receptor de lactoferrina (LfR), transportador de metales divalentes-1 (DMT1), ferroportina-1 (MTP1), citocromo b del duodeno (Dcytb), proteína de intercambio aniónico (AE2), se han encontrado en el pulmón y se han relacionado con el transporte del hierro intracelular (Ghio et.al., 2006). La hemoxigenasa-1 (HO-1) también participa en el aporte de hierro hacia la ferritina al ser la enzima encargada de metabolizar al grupo hemo (Carraway et.al., 1998).

Figura 1. Modelo del metabolismo del hierro en pulmón.



Fuente: Modificado de Ghio et. al., 2006.

La Fer es la proteína encargada de almacenar el hierro intracelularmente en una forma menos reactiva, ya que limita la capacidad de este metal para generar especies reactivas de oxígeno y radicales generados por hierro, por lo que actúa como una proteína antioxidante (Surguladze et.al., 2004). En algunos casos, al exponer los macrófagos alveolares a partículas de sílice que contienen hierro, las concentraciones de ferritina aumentan con respecto a los niveles del control, y a su vez la expresión de mRNA de la Fer no muestra variaciones significativas (Ghio et.al., 1998a). Este mismo fenómeno se observó al exponer células epiteliales respiratorias a concentraciones de ceniza residuales de petróleo las cuales contienen hierro (Ghio et.al., 1998b).

La Tf es la proteína encargada de introducir el hierro a las células (Thorstensen et.al., 1990). Al ser inducida la Tf en células epiteliales respiratorias, las cuales fueron expuestas a cenizas residuales de petróleo, existió una menor concentración de Tf (Ghio et.al., 1998b), lo cual se puede explicar como un mecanismo para impedir mayor entrada a la célula. Esta misma respuesta se observó al exponer células alveolares a partículas que contienen hierro en el lavado alveolar (Ghio et.al., 2008).

El TfR es la proteína encargada de regular la absorción intracelular de hierro proveniente de la Tf, este receptor se expresa en todas las células que requieran hierro (Wang et.al., 2005). La absorción se realiza por endocitosis en los macrófagos alveolares (Mateos et.al., 1998). En células epiteliales respiratorias, se encontró que al exponerlas a cenizas volátiles de petróleo con hierro, el mRNA del TfR disminuyó con respecto al control (Ghio et.al., 1998b).

La Lf es una proteína muy similar a la Tf, pero con la diferencia de que la Lf participa en la desintoxicación por hierro al ser responsable de la absorción intracelular de ésta y su posterior acumulación en la Fer para mantenerlo de manera no reactiva en el interior de la célula (Suzuki et.al., 2001). La función de la Lf como desintoxicante se ve restringida debido a su baja concentración en los pulmones (Ghio et.al., 2006), cuantificado en el lavado bronquio alveolar esta proteína se encuentra en una relación 10 veces menor de la concentración de la Tf (Mateos et.al., 1998).

El receptor de la lactoferrina, LfR, es la proteína

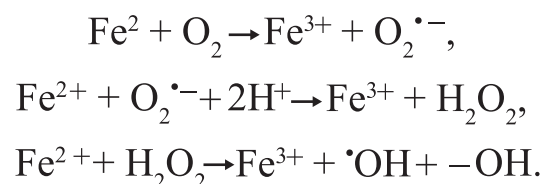
encargada de dar paso a la Lf al interior de la célula por medio de la endocitosis, en un mecanismo muy similar al que realiza el TfR, (figura7), para su posterior almacenamiento del hierro en la Fer (Suzuki et.al., 2001). Al exponer células epiteliales respiratorias a partículas con hierro, se observó que a mayor concentración de las partículas existió una mayor concentración de LfR. Esto puede indicar que esta proteína tiene una respuesta al aumento de hierro para lograr la desintoxicación de este metal.

La hemoxigenasa-1 (HO-1) es la proteína principal encargada del metabolismo del grupo hemo, el cual produce como productos la biliverdina, monóxido de carbono e hierro, el cual se almacena en la Fer (Keel et.al., 2008). Dado que el pulmón es la interfase entre la atmósfera y el resto del cuerpo, estos tienen una gran vulnerabilidad a la lesión oxidativa. La HO-1 es una de las pocas moléculas inducibles que puede proteger los pulmones al exponerse a factores oxidantes (Morse et.al., 2005).

### Daño pulmonar por hierro

El hierro es un micronutriente esencial, requerido para casi todas las funciones celulares, pero este mineral al ser inhalado en grandes cantidades, puede causar un desequilibrio en la homeostasis pulmonar, debido a que este metal tiene la capacidad de generar radicales libres mediante las siguientes reacciones (Vallyathan et.al., 1997) (ver figura 2):

Figura 2. Reacciones del hierro para generar radicales libres.



Fuente: Tomado de Turi et.al., 2004.

Puesto que en el interior de los pulmones se encuentran grandes cantidades de O<sub>2</sub>, éste al reaccionar con el hierro, tiende a formar las especies reactivas de oxígeno, generando estrés oxidativo en las células pulmonares. A su vez, se asocian con un aumento en enfermedades pulmonares, ya que este metal ayuda al crecimiento microbiano, lo que traduce en infecciones bacterianas más severas y persistentes. También el estrés oxida-

tivo debido a altas concentraciones de hierro en el tracto respiratorio bajo, se ha relacionado con muchas enfermedades como neumonías bacterianas, fibrosis quística, sarcoidosis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedades intersticiales, sepsis, carcinoma bronquial, silicosis, asbestosis, mesotelioma, neumoconiosis, enfermedades inflamatorias de pulmón, sideroelastosis, asma, tuberculosis y hemorragia alveolar (Zelikoff et.al., 2002).

En este estudio se evaluaron los niveles de expresión de los genes de ferritina (Fer) y del receptor a la transferrina (TfR), como los únicos genes expresados en pulmones de niños. El objetivo fue evaluar si las variaciones en estos marcadores se asocian al tipo de aire y lugar de residencia de los niños.

## Método

### Tejido pulmonar humano

Como es un estudio exploratorio, primeramente se dio énfasis a las diferencias en el lugar de residencia; así se analizaron 19 casos de niños residentes del Distrito Federal (DF) y 15 casos de residentes de provincia. Si se encontraran diferencias, posteriormente se realizará un análisis detallado de los sitios donde residieron los niños, así como las costumbres tanto de ellos como de los padres, como la actividad laboral, así como rumbos de la ciudad. El tejido pulmonar incluido en parafina, se seleccionó del banco de autopsias realizadas en el Departamento de Patología del Hospital Infantil de México Federico Gómez, de la Secretaría de Salud. Estos casos fueron de niños mayores de 3 años de edad que fallecieron por algún padecimiento no respiratorio. Los casos fueron de ambos sexos. De los protocolos de autopsia se obtuvieron los datos de edad, sexo, lugar de residencia; así como el diagnóstico de muerte. Los tejidos fueron confirmados como parénquima pulmonar por análisis de los cortes histológicos teñidos con H&E.

### Diseño de los iniciadores de los genes de estudio

Las secuencias de los iniciadores para cada uno de los genes se obtuvieron del trabajo previo hecho por Fernandez-Castillo y cols. (2008). Las secuencias fueron las siguientes:

Fer-F: 5'-TCGCAGGTGCGCCAGAACT-3';

Fer-R: 5'-GCAAAGTTCTTCAAAGCCACAT-3';

TfR-F: 5'-CTGCCAGCTTTACTGGAGAA-3';

TfR-R: 5'-CATTGTCAATGTCCCAAACGT-3';

$\beta$ -actina-F: 5'-CAAGAGAGGCATCCTCAC-3';

$\beta$ -actina-R: 5'-CAGCTAATTGTAGAAGGTG-3';

Los iniciadores se diseñaron con el objeto de generar productos amplificados, de preferencia menores de 200 pb, porque el RNAm fue aislado de tejido incluido en parafina. Los tamaños de los amplificados fueron los siguientes: Fer, 140 pb; TfR, 151 pb; y  $\beta$ -actina, 103 pb.

### Aislamiento del RNAm de los cortes histológicos incluidos en parafina

Tres cortes de 8 mm de tejido pulmonar, fueron desparafinados con xileno a 50° C y posteriormente con 2 cambios de alcohol absoluto, hasta secarlos durante 15 min. Posteriormente se realizó la extracción del RNAm de acuerdo a la descripción técnica contenida en el "RecoverAll Total Nucleic Acid Isolation" (AMBION). Posteriormente se eluyó el RNA limpio de la resina con 60  $\mu$ l de agua libre de RNasas, y finalmente el RNA purificado del tejido se almacenó a -20° C con 1  $\mu$ l de inhibidor de RNasas.

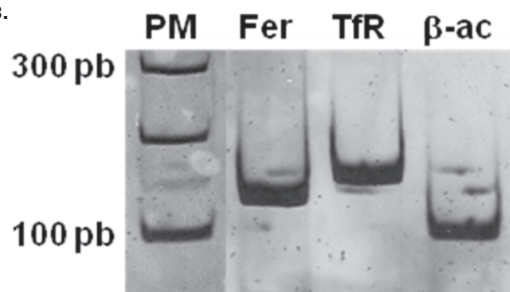
### Síntesis de cDNA y amplificación de los fragmentos de los genes de Fer, TfR, y $\beta$ -actina

Tres  $\mu$ l de cada RNA se sometieron a síntesis de cDNA de acuerdo a la condiciones descritas en el "First Strand cDNA Síntesis Kit" (Fermentas). Las reacciones de amplificación de los fragmentos de los genes de estudio se realizaron en un termociclador Mastercycler Gradient (Eppendorf), en un volumen final de 50  $\mu$ l. Las condiciones de la amplificación fueron: desnaturalización inicial, 95°C/5 min; ciclo de amplificación: desnaturalización 95°C/30 s, alineamiento Tm-2°C/30 s, elongación 72°C/30 s; elongación final 72°C/5 min y salida 20°C. Se utilizó el sistema de P1 Taq DNA polimerasa (Fermentas). El análisis final se realizó a 30 ciclos de amplificación, en las cuáles no existió saturación en la reacción (resultados no mostrados).

Previamente, se evaluaron los iniciadores sintetizados, realizando ampliaciones sobre cDNA de la línea celular A549 de adenocarcinoma pulmonar, la cual expresa los genes de la vía del metabolismo del hierro. Los resultados de la figura 3 confirmaron el diseño correcto de los iniciadores utilizados, y la especificidad de las condiciones de la reacción.

Figura

3.



Fragmentos amplificados de los genes de ferritina (Fer), receptor a transferrina (TfR) y β-actina (β-ac), sobre el cDNA de la línea celular A549. Fer, 140 pb; TfR, 151 pb; β-ac, 110 pb. PM, marcador de 100 pares de bases. Productos separados en gel de poliacrilamida y teñidos con plata.

### Análisis de las bandas de amplificación, densitometría de los productos y obtención de la relación de expresión

Las bandas de amplificación de cada gen se revelaron en geles de poliacrilamida al 12% mediante la tinción de plata. Previamente los geles se fijaron en etanol 10%-ácido acético 0.5% durante 10 min con agitación. A continuación se expusieron en la solución de tinción de nitrato de plata al 0.2% preparada en la misma solución fijadora durante 5 min con agitación. Finalmente, las bandas se revelaron en hidróxido de sodio al 3%-formaldehído 0.15% hasta su aparición. De cada gel se obtuvieron imágenes digitales y en estas se cuantificó por densitometría la intensidad de cada banda, utilizando el programa ImageJ. Por último, se obtuvo la relación de expresión dividiendo la densidad integrada de cada gen problema entre la obtenida del gen constitutivo, b-actina.

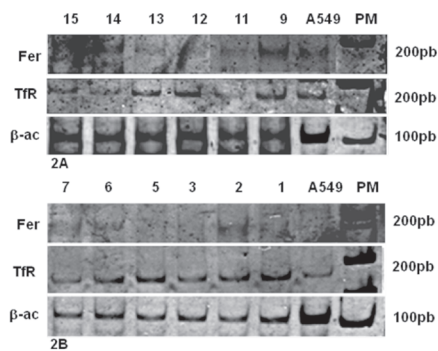
### Análisis estadístico

Se obtuvo la media de expresión de cada gen y se evaluaron las diferencias de expresión de cada grupo: CM y Provincia mediante la prueba "t" de student. Se consideraron significativas cuando el valor de p fue menor a 0.05.

## Resultados

Los 32 de 34 casos estudiados expresaron el gen constitutivo β-actina, y fueron considerados para el estudio y análisis de expresión de los genes Fer y TfR. Este resultado corroboró que el RNAm extraído de estos casos se encuentra en condiciones óptimas para su estudio ( ver figura 4):

Figura 4.



RT-PCR de los genes de Fer, TfR y b-ac sobre el cDNA obtenido de algunos casos, en tejido pulmonar de niños residentes de la CM (2A) y de Provincia (2B). Cada carril es un caso diferente. A549, línea celular; PM, marcador de 100 pares de bases. Productos separados en gel de poliacrilamida y teñidos con plata.

Posteriormente se procedió a cuantificar por densitometría los fragmentos amplificados de cada uno de los genes por caso, y obtener la relación de expresión con respecto al obtenido de b-actina. De esa manera se obtuvo el promedio de expresión y su desviación estándar por gen y por grupo: residentes de Prov y de la CM (Tabla 1). Los resultados mostraron una elevación en la expresión de ambos genes en los niños residentes de la CM. De hecho, los genes de Fer y del TfR se expresaron 1.8 y 1.5 veces más, respectivamente, que el observado en niños residentes de Prov. Las diferencias fueron significativas sólo para la expresión del gen del TfR entre los niños de la CM y de Prov ( $p < 0.05$ ). Previamente (Fernández-Castillo et. al, 2009) se demostró por nuestro grupo de trabajo, que son un número menor de genes que se expresan en el pulmón, de los reportados por Ghio y cols. (2006). También se investigó la expresión de los genes de la hemo-oxigenasa 1 y de ferroquelatasa pero no se documentó su expresión en tejido pulmonar de niños. Por eso sólo se presentan los resultados obtenidos del análisis de 2 genes: la Fer y el TfR.

**Tabla 1.** Promedio de expresión de los genes de ferritina (Fer) y del receptor a la transferrina (TfR) en tejido pulmonar de niños residentes de la ciudad de México y de Provincia. \* diferencias significativas entre los grupos de ciudad de México y Provincia. n.s. no significativo.

GRUPO	n	Fer		TfR	
Ciudad de México	17	0.925 ± 0.668	n.s.	1.044 ± 0.358*	p < 0.05
Provincia	15	0.495 ± 0.523		0.703 ± 0.350*	

## Discusión

El objetivo de este trabajo fue conocer los niveles de expresión de algunos genes que participan en el metabolismo del hierro en tejido pulmonar humano, de niños residentes de la CM y de Prov. Los resultados mostraron el incremento importante de la expresión de ambos genes en los niños de la CM. Generalmente se ha asociado la alteración en los niveles de fierro a padecimientos respiratorios como el síndrome de insuficiencia respiratoria aguda del adulto (Upton et.al, 2003) y en los cuadros de hipoxia asociada a alteraciones pulmonares crónico-degenerativas como en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, o en cuadros agudos de insuficiencia respiratoria por otras causas como el daño vascular en la hipertensión arterial pulmonar (Joyner y Johnson, 2008). También está asociado el incremento del metabolismo del fierro en personas que viven en ciudades a grandes altitudes (Moloney y Evans, 2003), debido al mecanismo compensatorio de la reducción del oxígeno atmosférico a altitudes como la de la CM: 2230 m sobre el nivel del mar.

Este último hecho, junto con el aumento en la generación de atmósferas oxidantes en la CM, debido a la generación fotoquímica de ozono como contaminante secundario, fueron parte de las razones para iniciar este estudio. De entrada, el hecho de observar diferencias en la expresión de estos dos genes, en los pulmones de niños de CM y de Prov, plantea fuertemente la posibilidad de que algunos factores, entre ellos la altitud o la presencia de contaminantes oxidantes puedan inducir esa elevación en la expresión, principalmente del TfR. Este es solo un estudio inicial que exploró la posible respuesta del pulmón. A partir de aquí, se plantea la posibilidad de estudiar casos de niños que hayan vivido a altitudes similares al de la CM, para evaluar si la altitud tiene un efecto en la inducción de estos genes. También podría realizarse mediante un modelo animal. La segunda posibilidad es analizar tejido de las zonas norte y sur de la CM, para poder entender si el incremento del ozono en la zona sur, induce la expresión de estos genes. La tercera posibilidad es conocer las costumbres de los padres, así como las características en las cercanías de la casa-habitación de los sujetos de estudio.

Lo que sí es importante reconocer es que el aumento en la expresión de la Fer y del TfR, sugieren fuertemente que los pulmones de niños de la CM están demandando el manejo de niveles elevados de fierro, ya que estos 2 genes son estimulados principalmente por la presencia del metal. El fierro por sí solo, cuando no se encuentra "atrapado" intracelularmente en forma de ferritina, puede promover la virulencia bacteriana y catalizar reacciones pro-oxidativas que pueden generar daño tisular (Upton, et.al, 2003). Hay que recordar que el fierro debe estar en complejo "almacenado" intracelularmente con la ferritina. De hecho la cadena pesada de la ferritina es la que realiza la función ferro-oxidativa y contiene el dominio de unión al metal (Wang et al, 2005). Otro caso con incremento en la expresión del TfR es en el síndrome de insuficiencia respiratoria aguda del adulto, y en el modelo de inducción en ratas expuestas a lipopolisacáridos (Upton, et.al, 2003). La inducción de la cadena pesada de la Fer, también es estimulada por citocinas (Bevilacqua et al, 1998).

Finalmente, la expresión del TfR está acoplada a la proliferación y diferenciación celular (Wang et al, 2005). No sabemos si este hecho tenga implicaciones en los tejidos de niños residentes de la CM, ya que estos presentaron elevaciones importantes en la expresión del TfR. Hay controversia en este respecto, ya que por otro lado, Smith y cols. (2008) demostraron que la hipoxia secundaria a EPOC puede ser controlada por infusiones de fierro, ya

que pueden bloquear las respuestas vasoconstrictoras debido a hipoxia aguda. ¿Puede este mecanismo operar en los pulmones de los niños residentes de la CM para evitar la falta de oxigenación?, No lo sabemos. ¿Cuáles pueden ser las implicaciones biológicas de la expresión de estos genes en los pulmones? Lo que llama la atención es que no existe expresión del gen de la transferrina para entender la expresión de su receptor.

Por lo tanto, ¿cuál es el papel de la expresión de TfR? ¿Responde a la presencia de hierro ambiental?, ¿abre las posibilidades de crear respuestas reactivas en el pulmón?, ¿puede incrementar las posibilidades de desarrollar infecciones? No lo sabemos por el momento pero son preguntas que nuestro grupo de trabajo tiene contempladas. Si haya existido una historia de infecciones en otros sitios y manifestarse como incremento de TfR en pulmón. En relación a la Fer, lo que es claro es que seguramente el pulmón está acumulando e inactivando hierro intracelularmente, ya que ambos genes se encuentran en los pulmones de los dos grupos de estudio. ¿Es suficiente esa cantidad de Fer para manejar niveles elevados de hierro en los residentes de la CM? Tampoco lo sabemos. Pero es claro que el pulmón puede mantener al hierro en complejo con la ferritina.


## Conclusión

Se puede concluir que la expresión tanto de los genes de la Fer como del TfR se encuentra incrementada en los pulmones de los niños residentes de la CM.

Con estos resultados se piensa realizar tinciones de hierro con la tinción de Pearls optimizada con diamino-bencidina, para conocer los niveles de hierro intracelulares. También se analizará por inmunohistoquímica la presencia de estas proteínas y correlacionar los niveles de expresión de los mensajeros.

Se analizarán otros componentes del metabolismo del hierro, recién descritos como las proteínas PCBP1 que es una chaperona de hierro y se propone es la proteína que transporta el hierro intracelular a la ferritina; y a la proteína FLVR, que participa también en exportar hierro y en la diferenciación.

## Agradecimientos

Este proyecto fue apoyado por la Coordinación de Investigación de la Universidad Simón Bolívar, de la convocatoria de apoyo a proyectos de investigación para el ciclo escolar 20010-2011. 

## Referencias

- Bevilacqua, M., Faniello, M., Russo, T., Cimino, F. y Costanzo, F. (1998). "P/CAF/p300 complex binds the promoter for the heavy subunit of ferritin and contributes to its tissue-specific expression". En *Biochem J.* 335: 521-525.
- Carraway, M., Ghio, A., Taylor, J. y Piantadosi, C. (1998). "Induction of ferritin and heme oxygenase-1 by endotoxin in the lung". En *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 275: 583-592.
- De la Cerda, C. (1990). *Manual para la descripción de perfiles de suelo en el campo*, 3ª. Ed. 15-17.
- Ghio, A., Turi, J., Yang, F., Garrik, L. y Garrick, M. (2006). "Iron homeostasis in the lung". En *Biol Res.* 39: 67-77.
- Ghio, A., Stonehuerner, J., Richards, J. y Devlin, R. (2008). "Iron homeostasis in the lung following asbestos exposure". En *Antiox Redox Sign.* 2: 371-377.
- Ghio, A., Carter, J., Richards, J., Brighton, L., Lady, J. y Devlin, R. (1998a). "Disruption of normal iron homeostasis after bronchial instillation of an iron-containing particle". En *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 274: 396-403.
- Gilmour, P., Brown, D., Beswick, P., MacNee, W., Rahman, I. y Donaldson, K. (1997). "Free radical activity of industrial fibers: role of iron in oxidative stress and activation of transcription factors". En *Environ Health Perspect.* 5: 1313-1317.
- Gurgueira, S., Lawrence, J., Coull, B., Murthy, G. y González-Flecha, B. (2002). "Rapid increases in the steady-state concentration of reactive oxygen species in the lungs and heart after particulate air pollution inhalation". En *Environ Health Perspectives.* 8: 749-755.
- Joyner, M. y Johnson, B. 2008. "Iron lung? New ideas about hypoxic pulmonary vasoconstriction". En *J Physiol.* 583: 5837-5838.
- Kalliomäki, P., Sutinen, S., Kelha, V., Lakomaa, E., Sortti, V. y Sutinen, S. (1979). "Amount and distribution of fume contaminants in the lungs of an arc welder post mortem". En *British J Indus Med.* 36: 224-230.
- Keel, S., Doty, R., Yang, Z., Quigley, J., Chen, J., Knoblaugh, S., Kingsley, D., Domenico, I., Vaughn, M., Kaplan, J., Palis, J. y Abkowitz, L. (2008). "A heme export protein is required for red blood cell differentiation and iron homeostasis". En *Science.* 319: 825-828.
- Mateos, F., Brock, J. y Pérez-Arellano, J. (1998). "Iron metabolism in the lower respiratory tract". En *Thorax.* 53: 594-600.
- Mayo, J., Kohlhepp, P., Zhang, D. y Winzerling, J. (2004). "Effects of sham air and cigarette smoke on A549 lung cells: implications for iron-mediated oxidative damage". En *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 286: L866-L876.

- Moloney, E. y Evans, T. (2003). "Pathophysiology and pharmacological treatment of pulmonary hypertension in acute respiratory distress syndrome". En *Eur Respir J.* 21: 720-727.
- Morse, D. y Choi, A. (2005). "Heme Oxygenase-1". En *Am J Respir Crit Care Med.* 172: 660-670.
- Smith, T., Balanos, G., Croft, Q., Talbot, N., Dorrington, K., Ratcliffe, P. y Robbins, P. (2008). "The increase in pulmonary arterial pressure caused by hypoxia depends on iron status". En *J Physiol.* 586: 5999-6005.
- Surguladze, N., Thompson, K., Beard, J., Connor, J. y Fried, M. (2004). "Interactions and reactions of ferritin with DNA". En *J Biol Chem.* 15: 14694-14702.
- Suzuki, Y., Shin, K. y Lönnnerdal, B. (2001). "Molecular cloning and functional expression of a human intestinal lactoferrin receptor". En *Biochemistry.* 40: 15771-15779.
- Thorstensen, K. y Romslo, I. (1990). "The role of transferrin in the mechanism of cellular iron uptake". En *Biochem J.* 271: 1-10.
- Turi, J., Yang, F., Garrick, M., Piantadois, C. y Ghio, A. (2004). "The iron cycle and oxidative stress in the lung". En *Free Radicals Biol Med.* 7: 850-857.
- Upton, R., Chen, Y., Mumby, S., Gutteridge, J., Anning, P., Nicholson, A., Evans, T. y Quinlan, G. (2003). "Variable tissue expression of transferrin receptors: relevance to acute respiratory distress syndrome". En *Eur Respir J.* 22: 335-341.
- Vallyathan, V. y Shi, X. (1997). "The role of oxygen free radicals in occupational and environmental lung diseases". En *Environ Health Perspectives.* 1: 165-177.
- Wang, J., Chen, G. y Pantopoulos, K. (2005). "Inhibition of transferrin receptor 1 transcription by a cell density response element". En *Biochem J.* 392: 383-388.
- Zelikoff, J., Schermerhorn, K., Fang, K., Cohen, M. y Schlesinger, R. (2002). "A role for associated transition metals in the immunotoxicity of inhaled ambient particulate matter". En *Environ Health Perspectives.* 110: 871-875.