Acta Farm. Bonaerense **24** (4): 619-26 (2005)
Recibido el 16 de febrero de 2005
Aceptado el 19 de julio de 2005

Hemo-Oxigenasa 1: Un Promisorio Blanco Terapéutico

Carlos SÁNCHEZ, Idania RODEIRO, Gabino GARRIDO* & René DELGADO

Laboratorio de Farmacología, Centro de Química Farmacéutica (CQF), Aptdo. Postal 16042, 200 y 21, Atabey, Playa, La Habana, Cuba.

RESUMEN. La enzima hemo-oxigenasa es la principal enzima implicada en el catabolismo del grupo hemo y da lugar a tres productos fundamentales: biliverdina, el hierro libre y el monóxido de carbono. Fue descubierta a principios de la década del 60, pero no fue hasta mediado de los años ´80 donde empezó a estudiarse con detenimiento y se determinó que existía una isoforma inducible, denominada hemo oxigenasa-1. Esta proteína juega un papel muy importante en la modulación de procesos inflamatorios y eso ha sido demostrado en diferentes modelos experimentales tanto en animales como humanos, en los mecanismos de defensa antioxidantes que posee el organismo ante la presencia de algún daño y en el bloqueo de los procesos apoptóticos donde han sido involucradas distintas rutas de señalización celular. El estudio de esta enzima y de su mecanismo de acción ha sido objeto de estudio por parte de muchos científicos y su esclarecimiento será un paso importante para su posterior inclusión en la clínica.

SUMMARY. "Heme Oxygenase-1: A Promissory Therapeutic Target". Heme oxygenase is the rate-limiting enzyme in the catabolism of heme, followed by production of biliverdin, free iron and carbon monoxide. It was discovered at the beginning of the 60´s decade, but didn't go until half-filled of eighties when an inducible form of heme oxygenase was discovered, named heme oxygenase-1. This protein plays a very important role in the modulation of inflammatory processes and that has been demonstrated in different experimental models so much in animals as human, in the mechanisms of antioxidant defense that it possesses the organism before the presence of different damage and in the blockade of the apoptotic process where different routes of cellular signaling have been involved. The study of this enzyme and of their action mechanism has been matter of study by many scientists and their clarification will be an important step for its later inclusion in the clinic.

INTRODUCCIÓN

La enzima hemo-oxigenasa (HO) debuta en la comunidad científica en 1964 cuando Wise *et al.* [1] demuestran la degradación *in vitro* del grupo hemo a biliverdina (BV). Estos descubrimientos fueron confirmados por Tenhuen *et al.* [2,3], quienes identificaron a la HO como la principal enzima implicada en el catabolismo del grupo hemo y se dieron a la tarea de caracterizarla, para demostrar su localización celular. La HO es la principal enzima implicada en el catabolismo oxidativo del grupo hemo, rindiendo como consecuencia tres productos: BV [la cual es convertida a bilirrubina (BR)], el monóxido de carbono (CO) y el hierro (Fe^{2+}). Esta enzima permaneció relativamente en la oscuridad hasta finales de los años ´80, cuando una isoforma inducible fue descubierta. Esta isoforma fue denominada hemo oxigenasa-1 (HO-1), la cual es conocida también como HSP-32 (heat shock protein-32) [4]. A la HO-1 se le atribuyen propiedades anti-inflamatorias [5], antioxidantes [6] y anti-apoptóticas [7], no sólo por su actividad propiamente, sino por los productos que ella es capaz de generar. Su expresión se incrementa considerablemente en presencia de hipoxia, hiperoxia, endotoxinas bacterianas, radiaciones ionizantes, citocinas, especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, metales pesados, factores de crecimiento, etc, por lo que diferentes autores la consideran la enzima más inducida por diversos estímulos que cualquier otra descrita hasta el momento [4,8]. La HO-1 aparece implicada además en numerosos procesos

PALABRAS CLAVE: Anti-inflamatorio, Antioxidante, Hemo oxigenasa-1.
KEY WORDS: Anti-inflammatory, Antioxidant, Heme oxygenase-1.

* Author to whom correspondence should be addressed. *E-mail:* gabino.garrido@infomed.sld.cu

fisiopatológicos, tales como: asma, aterosclerosis, disfunciones miocárdicas, enfermedades inflamatorias intestinales, enfermedades autoinmunes y trasplantes de órganos y tejidos, entre otras (Tabla 1), lo que despierta un gran interés científico manifiestado en el auge de las publicaciones relacionadas con el tema en los últimos años (Fig. 1). El presente trabajo aborda la problemática de una enzima que ha sido relacionada recientemente con diferentes enfermedades, así como las funciones que les han sido atribuidas en diferentes modelos experimentales y humanos.

PAPEL DE LA HO-1 EN LOS PROCESOS INFLAMATORIOS

Existen numerosas evidencias experimentales que confirman la participación de la HO-1 en eventos asociados a procesos inflamatorios. Esto se ha demostrado en modelos agudos de inflamación como los inducidos por carragenina [9], albúmina de suero bovino [10] y ovoalbúlmina aerolizada [11], así como también en la respuesta inflamatoria producida por lentes de contactos en conejos [5] o en la inflamación sistémica inducida por el lipopolisacárido bacterial (LPS) [12]. La HO-1 previene del daño oxidativo a las células endoteliales y reduce la migración leucocitaria a través de la inhibición de la síntesis y liberación de mediadores inflamatorios, dentro de los que se incluyen radicales libres, agentes quimiotácticos y activadores celulares [5]. La inducción de la enzima disminuye la expresión de E y P-selectinas inducidas por LPS en pulmón, riñón, hígado e intestinos [14], disminuye la expresión de la molécula de adhesión intracelular (ICAM-1) endotelial y regula la generación de oxidantes intracelulares en células endoteliales, inhibiendo la adhesión leucocitaria generada por especies reactivas de oxígeno (ROS) [15].

En procesos inflamatorios el incremento en la expresión de la HO-1 traería como consecuencia la inhibición de hemoproteínas tales como la ciclooxigenasa (COX) y la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), debido a una disminución en la biodisponibilidad del grupo hemo [5]. Se ha demostrado que la sobre-expresión de HO-1 disminuye la actividad de la COX en células endoteliales con baja producción de prostaglandinas (PGs) I_2 y E_2, además de inhibir la expresión de p27, la fase G1 del ciclo celular y la apoptosis, debido a una reducción en la actividad de la COX. También la sobre-expresión de la enzima disminuye la expresión de la COX-2 en células endoteliales de arteria femoral huma-

ENFERMEDADES Y FUNCIONES FISIOLÓGICAS	REFERENCIAS
SISTEMA CARDIOVASCULAR	
Aterosclerosis	4, 7, 21
Hipertensión	4, 7, 21
Disfunción miocárdica	46, 58
Agregación plaquetaria	4, 5, 21
Isquemia-reperfusión cardíaca	45
Daño vascular	5, 30
SISTEMA RESPIRATORIO	
Asma	4, 11, 33
Hiperoxia	4, 33
Hipoxia	5, 33
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD)	7, 33
Rinitis alérgica	33, 37
HÍGADO	
Hepatotoxicidad	53, 54, 55
Isquemia-reperfusión hepática	16
Función hepatobiliar	4
Choque hepático	4
Perfusión hepática	4
SISTEMA INMUNE	
Enfermedades autoinmunes	4,7
Modulación de la actividad mastocitaria	34,35,36
Activación de basófilos	38
Quimiotaxis de neutrófilos	37,39
Adhesión leucocitaria	4,5
Cascada del complemento	46
SISTEMA ENDOCRINO	
Regulación del sistema hipotálamo-hipófisis	4
Protección de las células β-pancreáticas	57,58
SISTEMA NERVIOSO	
Enfermedad de Alzheimer	4,7
Neuroprotección	4,16
Daño a la médula espinal	4
Neurotransmisión	4, 8
SISTEMA RENAL	
Daño agudo renal	7,16
Isquemia-reperfusión renal	16
Glomerulonefritis	7,16
SISTEMA DIGESTIVO	
Enfermedades inflamatorias intestinales (IBD)	16
Isquemia-reperfusión intestinal	44
Isquemia intestinal	16
OTRAS	
Trasplantes de órganos y tejidos	4, 33, 58
Cáncer	7, 42, 60
Pre-eclampsia	4
Homeostasis del hierro	4,5,21,29
SIDA	4,7
Erección del pene	4

Tabla 1. Enfermedades y funciones fisiológicas en las que se ha descrito la presencia de la HO-1.

na y en macrófagos peritoneales, donde además se produce una disminución en la expresión proteica y en la producción de PGs [5].

Con respecto a la inhibición de la iNOS, ha sido comprobada en modelos experimentales realizados en macrófagos estimulados con endotoxinas bacterianas, en células epiteliales intestinales, en tejidos humanos [15,16] y en células mesangiales glomerulares [17,18], debido a que la actividad de la iNOS es fundamental en la fisiopatología de las enfermedades inflamatorias intestinales (IBD) [19] y renales [18]. Además, la reducción en la expresión de la iNOS por sobre-expresión de HO-1 también ha sido demostrada en modelos de cirrosis en ratas [20] y en el daño glomelular inmune [17]. También la expresión de la iNOS ha sido detectada en lesiones ateroscleróticas tanto en animales como en humanos, contribuyendo a la formación del radical peroxinitrito. La inducción de la HO-1 en la aterogénesis en respuesta a la producción del radical libre peroxinitrito puede contribuir a atenuar el daño vascular por la inhibición de la iNOS [21]. Por otra parte, la HO-1 es capaz de regular la actividad de las citocinas. La sobre-expresión de HO-1 ó la exposición a bajas concentraciones de CO, disminuyen la producción del factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) mediante la inhibición del factor de transcripción nuclear-kB (NF-(B), impidiendo la degradación de la subunidad I-kB [5]. En modelos de asma se ha visto que el CO reduce los niveles de interleucina-5 (IL-5) y eosinófilos en fluido brocoalveolar [11] e inhibe la producción de IL-6, la proteína inhibitoria de macrófagos-1α (MIP-1α) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) después de realizados trasplantes pulmonares en ratas [22]; también en modelos de inflamación pulmonar e hipertensión inducida por hipoxia una sobreproducción de esta enzima inhibe la inducción de la MIP-2 y de la proteína quimiotáctica para monocitos-1 (MCP-1) [23]. En este sentido, llevando a cabo modelos de inflamación crónica a nivel renal, se demostró que una deficiencia genética de la HO-1 se asocia con la activacion del NF-kB, un incremento en la expresión de la MCP-1 y como consecuencia se produce una inflamación celular túbulo-intersticial [5].

En modelos clásicos de choque séptico *in vivo* e *in vitro* inducidos por LPS, el CO inhibe la producción de citocinas proinflamatorias tales como el factor de necrosis tumoral-α (TNF-α), la IL-1β, la MIP-1β e incrementa la producción de citocinas anti-inflamatorias como la IL-10; estos efectos fueron independientes de la estimulación del sistema GC/GMPc [12].

Otras citocinas pueden actuar a través de la producción de la HO-1. La IL-13 aumenta la expresión de HO-1 en trasplantes cardíacos de ratas y como consecuencia de ello se produce un aumento en la supervivencia de estos animales. Por otra parte, la IL-10 induce la expresión de HO-1 y disminuye la expresión de CD11b, así como la producción de TNF-α y el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) en monocitos humanos estimulados con LPS; el efecto anti-inflamatorio de la IL-10 mediado por la HO-1 también se ha comprobado tanto en macrófagos murinos *in vitro* como en modelos de choque endotóxico *in vivo* [5].

PAPEL ANTIOXIDANTE DE LA HO-1

HO-1 juega un papel importante en el sistema de defensa antioxidante del organismo y la homeostasis del Fe. Experimentos *in vivo* e *in vitro* en animales demostraron que ratones carentes de HO-1 fueron más susceptibles a la producción de radicales libres y a la acumulación hepática y renal del Fe [5,6]. Además, la presencia de polimorfismos en la región promotora del gen de la HO-1 está vinculada con susceptibilidad a desarrollar enfermedades asociadas con el estrés oxidativo [24].

Por otra parte, la BR y la BV previenen la oxidación de ácidos grasos poli-insaturados con igual efectividad que el α-tocoferol, además de impedir su consumo [6]. Ambos son secuestradores de ROS como el hidroxilo, oxígeno singlete y ácido hipocloroso [6], aunque la BR también secuestra el superóxido, el peroxilo y el peroxinitrito [25]. Así mismo, la BR exógena previene la peroxidación lipídica en el plasma después de la depleción de antioxidantes endógenos [26], el daño foto-oxidativo a proteínas y es capaz de inhibir la quimioluminiscencia en macrófagos activados [6,37].

También el grupo hemo en su forma libre, a altas concentraciones, puede resultar una molécula potencialmente peligrosa. El estrés oxidativo generado por las radiaciones ultravioletas incrementa la degradación del citocromo P450 por lo que se produce una acumulación del hemo libre en los fibroblastos y durante la oxidación de la oxihemoglobina por el peróxido de hidrógeno el hemo es liberado a partir de la globina, por lo que se produce una alteración en la homeostasis celular. Por lo tanto, la inducción de la HO-1 bajo condiciones de estrés oxidativo, puede ocurrir para degradar el exceso de hemo libre intracelular liberado y que no es necesario para la síntesis de proteínas y por lo tanto pre-

venir la acumulación del hemo en las membranas biológicas [6].

En 1999 se publica la primera noticia de una deficiencia de la enzima en humanos. Un niño de 6 años de edad fallece después de 26 meses de acudir por primera vez a un médico con fiebres recurrentes y rash eritematoso generalizado. El paciente presentaba al morir retardo en el crecimiento, anemia, deposición de hierro en los tejidos, linfadenopatía, leucocitosis y sobre todo una vulnerabilidad extrema al daño oxidativo [28].

EFECTO ANTIAPOPTÓTICO DE LA HO-1

La HO-1 puede bloquear la apoptosis según las tres hipótesis siguientes:

a) Disminución de los niveles pro-oxidantes intracelulares

La inducción de la HO-1 es acompañada además por la síntesis de ferritina, la cual secuestra el Fe y como consecuencia se produce una disminución en los niveles del Fe libre en sangre, un agente pro-oxidante que puede provocar apoptosis en varios órganos y tejidos, por lo tanto se reduce el potencial catalítico de las reacciones oxidativas [7]. Por otra parte, la expresión de HO-1 bloquea la muerte celular inducida por deprivación sérica, etopóxido y estaurosporina, produciéndose un eflujo del Fe a través de un incremento de la actividad de la bomba de Fe, evidenciándose un rol de la HO-1 en la modulación de los niveles intracelulares del Fe y en la regulación de la viabilidad celular [7,29].

b) Incremento de los niveles de bilirrubina

La BR es otro importante mediador del efecto antiapoptótico de la HO-1. Aún cuando a altas concentraciones (>3mg/dL), pudiera resultar neurotóxica y causar ictericia, es considerado uno de los principales antioxidantes endógenos por su potente capacidad de secuestrar ROS. Debido a que las ROS son potenciales mediadores de la inducción de apoptosis es razonable esperar que la actividad antioxidante de la bilirrubina pueda explicar en parte los efectos antiapoptóticos de la HO-1 por el secuestro de las ROS. Esta hipótesis fue confirmada por experimentos en células hepáticas de ratas, donde fueron co-incubadas con un inhibidor de la HO-1, observándose un incremento en el número de células apoptóticas y este efecto fue marcadamente disminuido de forma dependiente de la dosis cuando a estas células se les administró BR en concentraciones fisiológicas [7].

c) Producción de CO

El CO es una importante molécula con diferentes funciones fisiológicas en el organismo. La liberación de CO por las células vasculares activa el sistema GC/GMPc, regulando el flujo sanguíneo debido a una inhibición en el tono vasomotor, en la proliferación de células musculares lisas y en la agregación plaquetaria. El CO mantiene la integridad de la pared vascular al bloquear la apoptosis, inhibiendo la liberación de citocinas proinflamatorias apoptóticas de la pared vascular [30]. Por otra parte, la administración exógena de CO inhibe la apoptosis en varios células tales como fibroblastos, células endoteliales y células musculares lisas vasculares. En las células vasculares en cultivo se observó que su supervivencia es mediada por la acción del CO debido a que los efectos citoprotectores fueron revertidos por la hemoglobina, un secuestrador de CO. También bajas concentraciones de CO proporcionaron protección contra el daño pulmonar hiperóxico [7].

La inhibición de la apoptosis por el CO puede ser mediada por diferentes mecanismos, aunque se requieren de investigaciones más precisas para caracterizar detalladamente cada una de las rutas y señalizaciones moleculares involucradas. Además del mecanismo postulado de la activación del sistema GC/GMPc, existe otro mecanismo antiapoptótico que involucra la transducción de señales como es el caso de las MAPK cinasas, específicamente activando la vía de la p38 MAPK. Esta vía ha sido recientemente involucrada en la inhibición de la expresión de CD95/CD95 ligando, diferentes caspasas, la liberación del citocromo c mitocondrial y la modulación de la familia de proteínas BCL-2 [5]. En presencia del LPS, el CO es capaz de activar las MKK cinasas (MKK-3 y 6) que a su vez activan a la p38 MAPK en macrófagos murinos.

Otros autores plantean que los efectos antiapoptóticos de la HO-1 pueden ser mediados por la inhibición de la p53 y por una sobrexpresión de la p21, produciéndose, por tanto, una marcada resistencia a la apoptosis celular [7].

HO-1 Y EL SISTEMA RESPIRATORIO

El estrés oxidativo y los procesos inflamatorios constituyen elementos fundamentales en la fisiopatología de las enfermedades de las vías aéreas. En los tejidos pulmonares la expresión de HO-1 puede ocurrir en células epiteliales respiratorias, fibroblastos, células endoteliales y fundamentalmente en macrófagos alveolares [31].

La inducción de HO-1 en estos tejidos *in vitro* e *in vivo* responden a procesos de estrés oxidativo e inflamación en las vías aéreas como consecuencia de la hiperoxia, hipoxia, endotoxemias y exposición a metales pesados, agentes

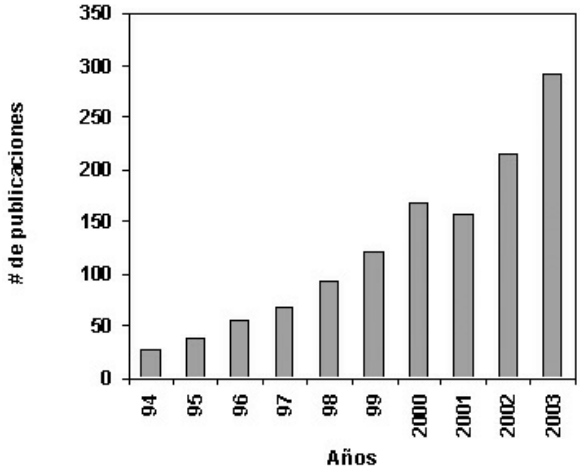

Figura 1. Publicaciones relacionadas con la HO-1, según la base de datos Medline (1994-2003).

mutagénicos y alergenos [31,32], por lo que, tanto la HO-1 como sus productos, desempeñan un papel importante en la modulación del funcionamiento de las vías aéreas en condiciones patológicas.

La expresión de HO-1 y la producción de CO se incrementa en respuesta a estímulos inflamatorios en el asma, la rinitis alérgica, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD) y en infecciones del tracto respiratorio [5,33]. Aumentos del CO exhalado (E-CO) han sido asociados con un incremento de la expresión de HO-1 en macrófagos alveolares aéreos obtenidos del esputo inducido en pacientes asmáticos no tratados con respecto a los controles. Estos pacientes asmáticos mostraron también, altos niveles de BR, indicativo de una elevada actividad de la HO-1 [33].

Por otra parte, en modelos preclínicos de asma se ha demostrado que el CO inhibe la liberación de histamina inducida por el compuesto 48/80 en diferentes tipos de mastocitos [34,35] y la producción de BR se correlaciona directamente con una disminución de la desgranulación mastocitaria en ratas después de haber sido expuestos a la liberación de histamina, anticuerpos anti-IgE y el compuesto A-23187 (ionóforo de calcio), y también es correlacionable con la disminución del reclutamiento leucocitario [36]. También la HO-1 puede modular los procesos de adhesión y migración en el tracto respiratorio, debido a que su inducción es capaz de provocar la inhibición de marcadores de activación tanto en neutrófilos [37] como en basófilos [38] y la migración celular en modelos experimentales tanto en animales [10] como en humanos [39].

También el CO representa un importante mediador en la respuesta adaptativa del organismo a la hipoxia, un rasgo característico de las enfermedades pulmonares vasculares [22]. La preinducción de la HO-1 previene el desarrollo de hipertensión pulmonar en los pulmones de ratas sometidas a tratamientos crónicos de hipoxia [40]. Además, ratones transgénicos con una sobre-expresión de HO-1 en los pulmones fueron resistentes a la inflamación inducida por hipoxia y la hipertensión [23]. Por otro lado, estudios *in vitro* mostraron que altas concentraciones de la HO-1 en células epiteliales pulmonares y en células pulmonares fetales de ratas, se correlacionaron con una marcada resistencia a la muerte celular inducida por hiperoxia [41,42], un proceso que puede causar un daño pulmonar tanto agudo como crónico, provocar alteraciones en el intercambio de gases y traer como consecuencia el edema pulmonar.

La HO-1 puede también contribuir al precondicionamiento isquémico, un proceso de protección celular adquirido contra el daño producido por isquemia-reperfusión (I/R) en modelos de transplantes pulmonares [33]; también en otro modelo el CO es capaz de ejercer su efecto protector mediante la disminución de la expresión en macrófagos del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) [43]. Además, se han obtenido muy buenos resultados en otros modelos de I/R en otros órganos como el cerebro, riñón e hígado [16], tracto gastrointestinal (TGI) [44] y corazón [45].

HO-1 Y EL SISTEMA CARDIOVASCULAR

La inducción de la HO-1 en células endoteliales y células musculares lisas vasculares puede ser provocada por agentes pro-aterogénicos [lipoproteínas de baja densidad (LDL) oxidadas, metabolitos lipídicos, el peroxinitrito, metales pesados, citocinas pro-inflamatorias (TNF-α y IL-1β) y la angiotensina II]. Éstas proporcionan una respuesta secundaria antioxidante alternativa ante la depleción endógena de antioxidantes como el glutatión (GSH), al restaurar el balance entre antioxidantes y pro-oxidantes en la pared vascular. En lesiones ateroscleróticas esta proteína es capaz de inducir la expresión de genes asociados con la ferritina, por lo que es capaz de quelar el hierro libre e impedir el daño oxidativo [21], además de potenciar la acción de otros antioxidantes como las vitaminas C y E [21,26].

La generación de hipoxia en las paredes arteriales como consecuencia de la hipertensión ha sido implicada en la patogénesis de la aterosclerosis. La generación de CO en respuesta a la hipoxia inhibe la expresión génica de la endote-

lina-1 (ET-1) y del PDFG en células endoteliales y además inhibe la proliferación de células musculares lisas hipóxicas. Aún cuando el CO es 50 veces menos potente que el óxido nítrico (NO) en la activación del sistema GC/GMPc es un importante regulador del tono vascular. En experimentos realizados en hígados aislados y perfundidos de ratas se demostró que la inhibición de la actividad de la HO, pero no la de la NOS, es capaz de incrementar la resistencia vascular hepática, la cual fue revertida por la administración exógena del CO. De acuerdo a lo anterior, productos hemínicos son capaces de disminuir la presión arterial en ratas hipertensas [21].

Es importante destacar también que altas concentraciones de BR están asociadas con una baja incidencia de patologías relacionadas a la producción de ROS. En ese sentido, se han encontrado bajas concentraciones de BR en pacientes con elevado riesgo de padecer la enfermedad de la arteria coronaria (CAD), además de determinados factores de riesgo para padecerla, como el hábito de fumar, LDL, diabetes y la obesidad. Se ha podido establecer una correlación directa entre el contenido de BR y las lipoproteínas de alta densidad (HDL). También, bajas concentraciones de BR pueden ser asociadas con un incremento en las lipoproteínas oxidadas con la consecuente formación de placas aterogénicas y sus efectos cardioprotectores están atribuidos a cualquiera de sus formas: BR no conjugada libre, no conjugada unida al plasma, δ-BR o mono/di-BR conjugada [46].

Además, muchos de los efectos de agentes aterogénicos en células vasculares son mediados por la activación de la proteína cinasa C (PKC) [47]. La BR también es capaz de inhibir su actividad en fibroblastos humanos [48], por lo que pudiera también brindar citoprotección independientemente de sus conocidas propiedades antioxidantes ya mencionadas [21]. Tanto la HO-1 como el CO son capaces de suprimir el desarrollo de lesiones arterioscleróticas asociadas con el rechazo crónico de órganos trasplantados [49,50].

HO-1 Y EL HÍGADO

Existen resultados desde el punto de vista experimental que permiten afirmar el efecto hepatoprotector de la HO-1. La inducción de la HO-1 protege de la citotoxicidad en un modelo de consumo de glucosa tanto en cultivos primarios de hepatocitos de ratas como en la línea celular BNLCL.2. Este efecto se le atribuyó a la producción de CO bloqueando específicamente la fosforilación de la vía ERK/MAPK. Además, en estos cultivos primarios de hepatocitos se observó que protegió de la apoptosis inducida por un anticuerpo antiFAS (CD95L) [51]; también en varios modelos de daño inmune hepático se obtuvieron semejantes resultados [52].

En modelos *in vivo* se ha visto el efecto citoprotector de la HO-1. En los modelos de daño oxidativo hepático provocado por el tetracloruro de carbono [53], el paracetamol [54] y el halotano [55], se observaron mejorías considerables a partir de la inducción de la HO-1 tanto desde el punto de vista histopatológico como en marcadores de daño hepático; entre ellos una disminución de las transaminasas [53-55], un rápido incremento en la expresión de la ferritina hepática, la superóxido dismutasa dependiente de manganeso (Mn-SOD) [54] y una disminución apreciable en la necrosis celular asociada con infiltración de células inflamatorias [55]. Por otra parte, la inhibición de la HO-1 trajo como consecuencia un aumento en los niveles de transaminasas, de malonilaldehído (MDA) y de los niveles de TNF-α mRNA, aumentando el daño oxidativo y los procesos inflamatorios [53].

También en un modelo de endotoxemia (D-galactosamina y LPS) la inducción de la HO-1 protegió de la apoptosis inducida por el TNF-α, debido a la disminución de la 3-caspasa, además de una disminución en los niveles de la alanina-aminotransferasa (ALAT) [56].

HO-1 Y LOS TRASPLANTES

El trasplante de órganos ha resultado exitoso a partir de la modulación de la HO-1. Altos niveles de HO-1 han sido detectados en macrófagos alveolares luego de trasplantes de pulmón. Además, la inducción de la HO-1 mejora el cuadro clínico de la enfermedad del rechazo a trasplantes (GVHD).

La terapia génica con HO-1 proporciona una considerable protección contra el trasplante hepático en ratas en cuya fase después del trasplante es capaz de inducir citocinas del patrón T-helper 2 (Th2) tales como IL-4 e IL-10 y elimina la producción de Th1. En modelos de I/R hepática se incrementa la supervivencia después de los trasplantes con la inducción de la HO-1.

La expresión elevada de genes protectores entre los que se encuentran los de la HO-1, participan de forma decisiva en episodios agudos como respuesta regulatoria al daño asociado con el rechazo de trasplantes renales [33]. En modelos de trasplantes de islotes β-pancreáticos tanto el CO como la inducción de la HO-1 produjeron protección de la apoptosis inducida por CD95/CD95L, al aumentar la supervivencia celular después de realizado el trasplante [57,58].

En el caso de los trasplantes de corazón, la producción de CO generado por la HO-1 es capaz de suprimir el rechazo del trasplante de ratones a ratas [49] y la BV incrementa la supervivencia animal por largo tiempo en modelos de corazones trasplantados de MHC de clases incompatibles [58]. En otros modelos de trasplante, corazones provenientes de ratones carentes de HO-1 fueron rechazados, al incrementar la apoptosis en células vasculares, la infiltración de leucocitos, la agregación plaquetaria y la trombosis vascular [21,59].

PARTICIPACIÓN DE LA HO-1 EN OTROS PROCESOS

Se ha comprobado un efecto anti-inflamatorio del etanol en macrófagos en donde el TNF-α es bloqueado y la IL-10 es incrementada. Sin embargo, si se bloquea la HO-1 estos efectos del etanol desaparecen, por lo que algunos autores plantean que la HO-1 pudiera utilizarse como un "embudo terapéutico" debido a que muchas otras moléculas para ejercer su actividad parecen depender de la activación de la HO-1 [58].

Por otra parte, la HO-1 y el CO en ciertas condiciones detienen el crecimiento de determinados sistemas de cultivo celulares y por lo tanto esto podría representar una nueva modalidad terapéutica en la modulación del crecimiento del tumor [42]. La sobre-expresión de HO-1 ó la administración del CO en modelos de adenocarcinomas y mesoteliomas murinos incrementaron en más de un 90% la supervivencia y en más de un 50% la reducción del tamaño del tumor [60]. También, la expresión de HO-1 en carcinomas bucales como consecuencia del hábito de fumar puede ser útil en la identificación de pacientes con bajo riesgo de metástasis en los linfonodos. Altos niveles de la HO-1 fueron detectados en grupos de pacientes sin metástasis [61]. En otros modelos tumorales se demuestra lo contrario, o sea que la HO-1 puede proteger a determinados tumores del estrés oxidativo y la hipoxia promoviendo la angiogénesis [33] y sobre todo por su efecto antiapoptótico lo que la convierte en un potencial blanco terapéutico para combatir el cáncer [7].

CONCLUSIONES

Estas evidencias nos permiten afirmar que la HO-1 desempeña un papel indispensable en el funcionamiento e integridad del organismo, por lo que su modulación terapéutica ha despertado un gran interés en la comunidad científica internacional. Algunos investigadores se muestran muy optimistas, planteando que en un futuro, tanto productos que sean capaces de inducirla como sus metabolitos, podrán ser utilizados en la clínica, sobre todo el CO en concentraciones alejadas de sus límites tóxicos. Los mecanismos por los cuales la HO-1 ejerce sus efectos se estudian y se siguen muy de cerca por prestigiosas personalidades en el campo de las investigaciones biomédicas, por lo que aunar esfuerzos para lograr su total comprensión y esclarecimiento será de mucha utilidad para su introducción definitiva en la práctica médica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wise, C.D. & D.L. Drabkin (1964) *Fed. Proc.* **23**: 323.
2. Tenhunen, R., H.S. Marver & R. Schmid (1968) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **61**: 748-55.
3. Tenhunen, R., H.S. Marver & R. Schmid (1969) *J. Biol. Chem.* **261**: 411-9.
4. Morse, D. & A.M.K. Choi (2002) *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* **27**: 8-16.
5. Alcaraz, M.J., P. Fernandez & M.I. Guillen (2003) *Curr. Pharm. Des.* **9**: 2541-51.
6. Ryter, S.W. & R.M. Tyrrell (2000) *Free Radic. Biol. Med.* **28**: 289-309.
7. Fang, J., T. Akaike & H. Maeda (2004) *Apoptosis* **9**: 27-35.
8. Maines, M.D. (1997) *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **37**: 517-54.
9. Willis, D., A.R. Moore, R. Frederick & D.A. Willoughby (1996) *Nat. Med.* **2**: 87-90.
10. Willis, D, A.R. Moore & D.A. Willoughby (2000) *J. Pathol.* **190**: 627-34.
11. Chapman, J.T., L.E. Otterbein, J.A. Elias & A.M. Choi (2001) *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* **281**: L209-16.
12. Otterbein, L.E., F.H. Bach, J. Alam, M. Soares, H. Tao Lu, M. Wysk, R.J. Davis, R.A. Flavell & A.M. Choi (2000) *Nat. Med.* **6**: 422-8.
13. Vachharajani, T.J., J. Work, A.C. Issekutz & D.N. Granger (2000) *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **278**: H1613-7.
14. Wagener, F.A., J.L. da Silva, T. Farley, T. de Witte, A. Kappas & N.G. Abraham (1999) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **291**: 416-23.
15. Cavicchi, M., L. Gibbs & B.J. Whittle (2000) *Gut* **47**: 771-8.
16. Guo, X., V.Y. Shin & C.H. Cho (2001) *Life Sci.* **69**: 3113-9.
17. Datta, P.K., E.J. Gross & E.A. Lianos (2002) *Kidney Int.* **61**: 847-50.
18. Datta, P.K., S.B. Koukouritaki, K.A. Hopp & E.A. Lianos (1999) *J. Am. Soc. Nephrol.* **10**: 2540-50.
19. Levine, A.D. & C. Fiocchi (2000) *Curr. Opin. Gastroenterol.* **16**: 306-9.

20. Wei, C.L., K.H. Lee, H.E. Khoo & W.M. Hon (2003) *J. Pathol.* **199**: 324-34.
21. Siow, R.C., H. Sato & G.E. Mann (1999) *Cardiovasc. Res.* **41**: 385-94.
22. Song, R., M. Kubo, D. Morse, Z. Zhou, X. Zhang, J.H. Dauber, J. Fabisiak, S.M. Alber, S.C. Watkins, B.S. Zuckerbraun, L.E. Otterbein, W. Ning, T.D. Oury, P.J. Lee, K.R. McCurry & A.M. Choi (2003) *Am. J. Pathol.* **163**: 231-42.
23. Minamino, T., H. Christou, C.M. Hsieh, Y. Liu, V. Dhawan, N.G. Abraham, M.A. Perrella, S.A. Mitsialis & S. Kourembanas (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**: 8798-803.
24. Hirai, H., H. Kubo, M. Yamaya, K. Nakayama, M. Numasaki, S. Kobayashi, S. Suzuki, S. Shibahara & H. Sasaki (2003) *Blood* **102**: 1619-21.
25. Minetti, M., C. Mallozzi, A.M. Di Stasi & D. Pietraforte (1998) *Arch. Biochem. Biophys.* **352**: 165-74.
26. Neuzil, J. & R. Stocker (1994) *J. Biol. Chem.* **269**: 16712-9.
27. Pedersen, A.O., F. Schonheyder & R. Brodersen (1977) *Eur. J. Biochem.* **72**: 213-21.
28. Yachie, A., Y. Niida, T. Wada, N. Igarashi, H. Kaneda, T. Toma, K. Ohta, Y. Kasahara & S. Koizumi (1999) *J. Clin. Invest.* **103**: 129-35.
29. Ferris, C.D., S.R. Jaffrey, A. Sawa, M. Takahashi, S.D. Brady, R.K. Barrow, S.A. Tysoe, H. Wolosker, D.E. Baranano, S. Dore, K.D. Poss & S.H. Snyder (1999) *Nat. Cell. Biol.* **1**: 152-7.
30. Durante, W. (2002) *Vasc. Med.* **7**: 195-202.
31. Lee, P.J., S.L. Camhi, B.Y. Chin, J. Alam & A.M. Choi (2000) *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* **279**: L175-82.
32. Otterbein, L.E. & A.M. Choi (2000) *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* **279**: L1029-37.
33. Slebos, D.J., S.W. Ryter & A.M. Choi (2003) *Respir. Res.* **4**:7.
34. Di Bello, M.G., L. Berni, P. Gai, C. Mirabella, J.F. Ndisang, E. Masini, T. Bani Sacchi & P.F. Mannaioni (1998) *Inflamm. Res.* **47**: S7-S8.
35. Ndisang, J.F., P. Gai, L. Berni, C. Mirabella, R. Baronti, P.F. Mannaioni & E. Masini (1999) *Immunopharmacology* **43**: 65-73.
36. Takamiya, R., M. Murakami, M. Kajimura, N. Goda, N. Makino, Y. Takamiya, T. Yamaguchi, Y. Ishimura, N. Hozumi & M. Suematsu (2002) *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **283**: H861-70.
37. Andersson, J.A., A. Egesten & L.O. Cardell (2002) *Allergy* **57**: 718-22.
38. Vannacci, A., R. Baronti, G. Zagli, C. Marzocca, S. Pierpaoli, D. Bani, M.B. Passani, P.F. Mannaioni & E. Masini (2003) *Eur. J. Pharmacol.* **465**: 289-97.
39. Andersson, J.A., R. Uddman & L.O. Cardell (2002) *Allerg.* **57**: 1008-12.
40. Christou, H., T. Morita, C.M. Hsieh, H. Koike, B. Arkonac, M.A. Perrella & S. Kourembanas (2000) *Circ. Res.* **86**: 1224-9.
41. Otterbein L.E., P.J. Lee, B.Y. Chin, I. Petrache, S.L. Camhi, J. Alam & A.M. Choi (1999) *Chest* **116**: 61S-63S.
42. Lee, P.J., J. Alam, G.W. Wiegand & A.M. Choi (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**: 10393-8.
43. Fujita, T., K. Toda, A. Karimova, S.F. Yan, Y. Naka, S.F. Yet & D.J. Pinsky (2001) *Nat. Med.* **7**: 598-604.
44. Attuwaybi, B.O., R.A. Kozar, S.D. Moore-Olufemi, N. Sato, H.T. Hassoun, N.W. Weisbrodt & F.A. Moore (2004) *J. Surg. Res.* **118**: 53-7.
45. Masini, E., A. Vannacci, C. Marzocca, S. Pierpaoli, L. Giannini, O. Fantappie, R. Mazzanti & P.F. Mannaioni (2003) *Exp. Biol. Med. (Maywood)* **228**: 546-9.
46. Mayer, M. (2000) *Clin. Chem.* **46**: 1723-7.
47. Mietus-Snyder, M., A. Friera, C.K. Glass & R.E. Pitas (1997) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **17**: 969-78.
48. Amit, Y. & A. Boneh (1993) *Clin. Chim. Acta* **223**: 103-11.
49. Sato, K., J. Balla, L. Otterbein, R.N. Smith, S. Brouard, Y. Lin, E. Csizmadia, J. Sevigny, S.C. Robson, G. Vercellotti, A.M. Choi, F.H. Bach & M.P. Soares (2001) *J. Immunol.* **166**: 4185-94.
50. Otterbein, LE., B.S. Zuckerbraun, M. Haga, F. Liu, R. Song, A. Usheva, C. Stachulak, N. Bodyak, R.N. Smith, E. Csizmadia, S. Tyagi, Y. Akamatsu, R.J. Flavell, T.R. Billiar, E. Tzeng, F.H. Bach, A.M. Choi & M.P. Soares (2003) *Nat. Med.* **9**: 183-90.
51. Choi, BM., H.O. Pae, Y.M. Kim & H.T. Chung (2003) *Hepatology* **37**: 810-23.
52. Sass, G., M.C. Soares, K. Yamashita, S. Seyfried, W.H. Zimmermann, T. Eschenhagen, E. Kaczmarek, T. Ritter, H.D. Volk & G. Tiegs (2003) *Hepatology* **38**: 909-18.
53. Nakahira, K., T. Takahashi, H. Shimizu, K. Maeshima, K. Uehara, H. Fujii, H. Nakatsuka, M. Yokoyama, R. Akagi & K. Morita (2003) *Biochem. Pharmacol.* **66**: 1091-105.
54. Chiu, H., J.A. Brittingham & D.L. Laskin (2002) *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **181**: 106-15.
55. Odaka, Y., T. Takahashi, A. Yamasaki, T. Suzuki, T. Fujiwara, T. Yamada, M. Hirakawa, H. Fujita, E. Ohmori & R. Akagi (2000) *Biochem. Pharmacol.* **59**: 871-80.
56. Dorman, R.B., M.L. Bajt, A. Farhood, J. Mayes & H. Jaeschke (2004) *Comparative Hepatology* **3**: S42.
57. Gunther, L., P.O. Berberat, M. Haga, S. Brouard, R.N. Smith, M.P. Soares, F.H. Bach & E. Tobiasch (2002) *Diabetes* **51**: 994-9.
58. Otterbein, L.E., M.P. Soares, K. Yamashita & F.H. Bach (2003) *Trends Immunol.* **24**: 449-55.
59. Soares, M.P., Y. Lin, J. Anrather, E. Csizmadia, K. Takigami, K. Sato, S.T. Grey, R.B. Colvin, A.M. Choi, K.D. Poss & F.H. Bach (1998) *Nat. Med.* **4**: 1073-7.
60. Otterbein, L.E. & A.M.K. Choi (2001) *Am. J. Resp. Crit. Care Med.* **163**: A476.
61. Tsuji, M.H., T. Yanagawa, S. Iwasa, K. Tabuchi, K. Onizawa, S. Bannai, H. Toyooka & H. Yoshida (1999) *Cancer Lett.* **138**: 53-9.