

Tlenek węgla – trucizna czy potencjalny terapeutyk?

Carbon monoxide – poison or potential therapeutic agent?

Dominika Furman-Toczek^{1 (a, b, c)}, *Martyna Zagórska-Dziok*^{1 (b, c)}, *Marcin Kruszewski*^{1, 2, 3 (c, d)},
Lucyna Kapka-Skrzypczak^{1, 2 (c, d)}

¹ Katedra Biologii Medycznej i Badań Translacyjnych, Wydział Medyczny, Wyższa Szkoła Informatyki i Zarządzania w Rzeszowie

² Zakład Biologii Molekularnej i Badań Translacyjnych, Instytut Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie

³ Centrum Radiobiologii i Dozymetrii Biologicznej, Instytut Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie

^(a) opracowanie koncepcji

^(b) przegląd piśmiennictwa

^(c) przygotowanie manuskryptu

^(d) opieka merytoryczna

STRESZCZENIE

Tlenek węgla (CO), niskocząsteczkowy, gazowy mediator o wielokierunkowej aktywności, powstaje w komórce w reakcji rozpadu cząsteczki hemu na skutek aktywności oksygenazy hemowej. Istnieje wiele doniesień naukowych potwierdzających udział tlenu węgla oraz oksygenazy hemowej w zintegrowanym systemie ochrony przed stresem komórkowym. Wykazano, że w układach biologicznych CO wykazuje działanie przeciwzapalne, anti-proliferacyjne oraz anti-apoptotyczne. Dokładniejsze poznanie funkcji tej cząsteczki doprowadziło do stopniowego wykorzystywania jej, jako potencjalnego terapeutyku w chorobach układu nerwowego, immunologicznego, krwionośnego a także w transplantologii. Celem niniejszej pracy, było przedstawienie roli tlenu węgla w modulacji procesów komórkowych, ze szczególnym uwzględnieniem potencjalnego zastosowania tej cząsteczki w farmakoterapii.

Słowa kluczowe: tlenek węgla; oksygenaza hemowa; cytoprotekcja; sygnalizacja komórkowa; potencjał terapeutyczny

SUMMARY

Carbon monoxide, a low molecular gaseous mediator with pleiotropic activity, arises as a result of heme degradation in reaction catalyzed by heme oxygenase. There are a variety of scientific reports confirming the participation of carbon monoxide and heme oxygenase in protection against cellular stress. It has been shown that in biological systems, CO can display anti-inflammatory, anti-proliferative and anti-apoptotic effect. A better understanding of the function of this molecule has led to its use as a potential therapeutic agent in diseases associated with neurological, immune and vascular systems and transplantology. The aim of this study was to present the role of carbon monoxide in modulation of cellular processes, with particular consideration of potential application in pharmacotherapy.

Keywords: carbon monoxide; heme oxygenase; cytoprotection; cell signalling; therapeutic potential

WPROWADZENIE

Tlenek węgla (CO), bezbarwny i bezwonny gaz, potocznie nazywany czadem, znany jest głównie ze swoich toksycznych właściwości. Jego niepożądane działanie związane jest z bezpośrednim i nieodwracalnym wiązaniem się do hemoglobiny (znacznie silniejszym, niż wiązanie tlenu), utworzeniem kar-

boksyhemoglobiny i indukcją hipoksji w tkankach. Ponadto, toksyczność tlenu węgla może być spowodowana wiązaniem się z innymi hemoproteinami tj. oksydaza cytochromu *c* czy mioglobina. Skutkiem tego jest zaburzenie procesów wewnątrzkomórkowych i pogłębienie stanu niedotlenienia [1].

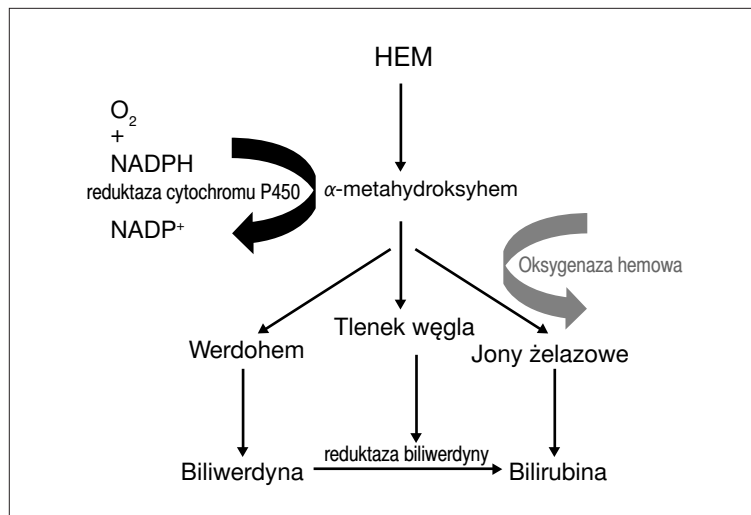
Liczne badania prowadzone w celu poznania właściwości biologicznych tlenu węgla doprowadziły

do zmiany w postrzeganiu roli i funkcji tej cząsteczki w organizmie. W 1963 r. zespół naukowy Curburn wskazał na endogenne występowanie CO w organizmie człowieka [2]. Kolejne doniesienia wskazywały, że tlenek węgla może być niskocząsteczkowym, gazowym mediatorem o wielokierunkowej aktywności biologicznej, który podobnie, jak siarkowodór (H_2S) oraz tlenek azotu (NO), może ubrać udział w przekazywaniu sygnałów wewnątrzkomórkowych, wykazując działanie przeciwzapalne, anty-proliferacyjne, anty-apoptotyczne oraz wazorelaksacyjne [3, 4]. Stopniowe poznawanie mechanizmów leżących u podstaw właściwości cytoprotekcyjnych tej cząsteczki, doprowadziło do wykorzystywania CO, jako potencjalnego terapeutyku w chorobach neurologicznych, kardiologicznych, immunologicznych, a także w transplantologii.

BIOSYNTeza TLenu WĘGLA

W układach biologicznych endogenny CO powstaje w głównej mierze w wyniku oksydacyjnej degradacji hemu pochodzącego z rozpadu hemoglobiny (86%) (Ryc. 1). Dodatkowym źródłem hemu mogą być hemoproteiny tj.: mioglobina, katalaza, cytochrom, a także peroksydaza. W znacznie mniej-

szych ilościach (14%), tlenek węgla powstaje w wyniku peroksydacji lipidów, fotooksydacji, metabolizmu ksenobiotyków czy też na skutek aktywności bakterii jelitowych [5, 6]. Stereosferyczna reakcja degradacji cząsteczki hemu katalizowana jest przez enzym oksygenazę hemową (HO). W pierwszym etapie tej reakcji, cząsteczka hemu zostaje utleniona do α -metahydroksyhemu, który reagując z tlenem tworzy werdohem, CO i Fe^{2+} . Następnie, werdohem ulega konwersji do biliwerdyny, która z kolei z udziałem reduktazy biliwerdyny jest redukowana do bilirubiny [7, 8]. W reakcji z udziałem HO zużywane są trzy cząsteczki tlenu oraz elektrony pochodzące z NADPH – zależnej reduktazy cytochromu P450. W wyniku powyższych reakcji chemicznych, cząsteczka hemu ulega przekształceniu do równomolowych ilości tlenku węgla (CO), kationów żelaza (Fe^{2+}) oraz biliwerdyny. W warunkach fizjologicznych, średnie stężenie tlenku węgla w tkankach mierzone jest na poziomie nanomolarnym [3, 8]. W tkankach, odpowiedzialnych za metabolizm hemu, tj. wątroba, stężenie endogennego CO jest na znacznie wyższym poziomie. Ilość tlenku węgla formującego się w hepatocytach może sięgać nawet do 0,5–0,7 nmol [7, 9]. Dziennie, w organizmie, tlenek węgla produkowany jest w ilości 16,4 μ mol/h, co daje około 500 μ mol czystego CO [5, 6].



Ryc. 1. Reakcja rozpadu cząsteczki hemu, katalizowana przez oksygenazę hemową (HO). Opracowanie własne na podstawie Bętkowski i wsp., 2004

Fig. 1. The reaction of heme degradation, catalyzed by heme oxygenase (HO). Own study based on Bętkowski et al., 2004

OKSYGENAZA HEMOWA

Oksygenaza hemowa występuje w trzech izoformach: HO-1, HO-2 i HO-3, kodowanych przez odrębne geny. Ekspresja tych genów uzależniona jest od rodzaju komórek oraz tkanek, w których są zlokalizowane. Niski, komórkowy poziom produktu genu dla HO-1 zaobserwowano dla tkanek niebiorących udziału w metabolizmie hemu, z kolei w narządach odpowiedzialnych za powstawanie i degradację krwinek czerwonych, ilość enzymu jest znacznie wyższa [8, 10]. HO-1, nazywana również białkiem szoku termicznego (HSP32), jest łatwo indukowalna i ulega ekspresji w wyniku działania różnych czynników m.in.: dużego stężenia hemu, metaloporfiryn, promieniowania UVA, stresu oksydacyjnego czy tlenu azotu i jego donorów. Aktywność tego izoenzymu jest regulowana na poziomie syntezy lub katabolizmu mRNA [5, 8, 11]. U ludzi obserwuje się różnice w poziomie indukcji HO-1, które prawdopodobnie są modulowane przez dwa funkcjonalne polimorfizmy, zlokalizowane w rejonie promotora genu HO-1 [12].

Izoforma HO-2 jest enzymem konstytutywnym, nieliczne badania wskazują jednak na możliwość modulowania jego aktywności np. przez glukokortykoidy wydzielane przez korę nadnerczy czy w wyniku aktywacji kinazy białkowej C. W fizjologicznych warunkach enzym ten nie jest wysycony substratem i na jego aktywność może mieć wpływ również dostępność hemu oraz pokrewnych mu związków [5, 8]. HO-3 również jest formą konstytutywną oksygenazyhemowej. Gen HO-3 w 90% wykazuje strukturalne podobieństwo do HO-2. Różnica między nimi polega na braku intronów w pierwszorzędowej sekwencji trzeciej izoformy [8]. Może to sugerować, że HO-3 powstał poprzez retrotranspozycję HO-2 [5, 13].

FUNKCJE I ZNACZENIE TLENU WĘGLA JAKO CZĄSTECZKI SYGNALIZACYJNEJ

Udział tlenu w procesach biologicznych w głównej mierze wynika z jego zdolności do wiązania się z białkami hemowymi i zależy od stężenia tlenu, a także obecności metali przejściowych, takich jak miedź czy żelazo [5]. Duże powinowactwo CO do hemoprotein sprzyja powstawaniu oksydacyjnych modyfikacji białek oraz lipidów, prowadząc do wywołania kaskady sygnałów komórkowych oraz różnorodnej odpowiedzi efektorowej. Wśród głównych białek reagujących z tlenkiem węgla wyróżnia się: cytochrom P450, COX (oksygenaza cy-

tochromu c), NOS (syntaza tlenu azotu), NADPH (dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy), czynniki transkrypcyjne, tj. hemoproteinę NPAS2 oraz represory Bach-1 i Bach-2 [3, 4].

W układach biologicznych tlenek węgla bierze udział w transdukcji sygnałów wewnątrzkomórkowych, wykazując między innymi działanie przeciwzapalne, a także anty-proliferacyjne, anty-apoptotyczne oraz wazorelaksacyjne [3, 4]. Mechanizm działania CO jest zróżnicowany i zależy od reakcji w której bierze on udział (Ryc. 2). Do najczęściej obserwowanych mechanizmów zalicza się oddziaływanie tlenu węgla z sGC (rozpuszczalna cyklozaguanylowa) [5]. CO łącząc się z cyklozaguanylową 4-krotnie zwiększa jej aktywność, powodując tym samym wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia cGMP (cykliczny guanozyno-3',5'-monofosforan) oraz aktywację zależnej od cGMP kinazy białkowej [3, 14]. Podobnym mechanizmem, który opiera się na interakcjach z sGC, jest wypieranie tlenu azotu przez CO z innych hemoprotein. NO w analogiczny sposób do CO moduluje aktywność sGC, przy czym zwiększa on aktywność tego enzymu o około 400 razy [15, 16]. CO, w przeciwieństwie do NO, nie ulega szybkiej inaktywacji i pomimo znacznie słabszego działania może znacznie dłużej wykazywać swoją aktywność [5, 8]. Fizjologiczne procesy, które bezpośrednio związane są z modulacją poziomu cGMP to między innymi neurotransmisja, relaksacja naczyń krwionośnych, zahamowanie agregacji płytek krwi i proliferacji mięśni gładkich [17–19].

Mimo, że cząsteczka tlenu węgla w swojej strukturze nie posiada wolnych elektronów oraz wykazuje stabilność chemiczną, może wpływać na homeostazę komórki poprzez generowanie RFT (reaktywne formy tlenu) [20]. Aktywność ta związana jest z powinowactwem CO do cząsteczki hemu obecnej w strukturze oksydaz zlokalizowanych w mitochondriach. Tlenek węgla łącząc się z oksygenazą cytochromu c powoduje zahamowanie jej aktywności katalitycznej i uwolnienie niewielkiej ilości reaktywnych form tlenu [21]. W tym przypadku, RFT zamiast wywoływać stres oksydacyjny, aktywują szereg szlaków sygnalizacyjnych, w tym MAPK p38 (rodzina kinaz białkowych aktywowanych mitogenem) i JNK (ang. *C-jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase*). JNK oraz MAPK p38, zaangażowane są w modulację apoptozy oraz procesów zapalnych [22]. Ponadto, tlenek węgla za pośrednictwem RFT wpływa również na regulację szlaków komórkowych związanych z białkami STAT (białka przekazujące sygnał i aktywujące transkrypcję), receptorami PPAR (receptory aktywowane

przez proliferatoryperoksyosomów γ), HIF-1 α (czynnik indukowany hipoksją 1) oraz szlakiem sygnalizacyjnym PI3K/Akt [4, 23].

Swoje działanie cytoprotekcyjne CO wykazuje także w wyniku interakcji z kanałami potasowymi, m.in.: K_v (kanały zależne od potencjału), K_{ATP} (kanały ATP-zależne), BK_{Ca} (duże kanały potasowe aktywowane jonami wapnia K_{Ca}). CO, wiąże się z podjednostkami kanałów BKCa, powodując zwiększenie ich czasu otwarcia, czego efektem jest hiperpolaryzacja błony w komórkach mięśni gładkich, a następnie rozkurcz naczyń krwionośnych [24, 25].

Badania biologicznego działania CO, umożliwiły wykrycie udziału tej cząsteczki także w regulacji ekspresji genów w komórkach prokariotycznych i eukariotycznych [8, 26, 27]. Między innymi wykazano, że CO może hamować wiązanie czynnika transkrypcyjnego NPAS2 do domeny wiążącej nici DNA. NPAS2 jest hemoproteiną z rodziny HIF-1 α , zaangażowaną w regulację cyklu dobowego [8, 13].

IMMUNOREGULACJA

Otterbein i wsp., wykazali, że nawet w fizjologicznych stężeniach (100–500 p.p.m.), CO hamuje produkcję cytokin prozapalnych tj.: TNF- α , IL-1 β , MIP-1 β , oraz stymuluje produkcję IL-10, uczestniczącej w procesach przeciwzapalnych. Proponowany mechanizm działania CO oparty jest na szlaku MKK3-p38 z udziałem kinaz białkowych rodziny MAPK, niezależnym od aktywności cGMP i NO [28, 29]. Ścieżka sygnalizacyjna MKK3-p38 MAPK jest kluczowym regulatorem biosyntezy cytokin prozapalnych zarówno na poziomie transkrypcji jak i translacji, co sprawia, że staje się potencjalnym celem w leczeniu chorób autoimmunologicznych oraz zapalnych [30]. Przeciwzapalne działanie tlenu węgla zostało potwierdzone w warunkach *in vivo*. W eksperymencie przeprowadzonym na myszach stymulowanych LPS wykazano, że w miarę stężenia podawanego CO, obecność TNF- α w surowicy myszy malała, natomiast wzrastał poziom IL-10 [28]. Wiele z efektów przeciwzapalnych wywieranych przez tlenek węgla, powiązanych jest z aktywacją kinaz MAPK szlaku MKK3-p38, a także jednoczesnym zmniejszeniem aktywności kinaz ERK 1/2 [3, 29]. Istnieją również doniesienia, że CO moduluje procesy immunologiczne poprzez wzrost stężenia RFT w mitochondriach. Zwiększona obecność RFT prowadzi do SUMO-ylacji receptora jądrowego PPAR γ . Następstwem tego procesu jest zahamowanie ekspresji cząsteczek zaangażowanych w rozwój odpowiedzi zapalnej tj. TNF (czynnik

martwicy nowotworu), IL-6 (interleukina 6), IL-1 (interleukina 1) czy iNOS (indukowalna syntaza tlenu azotu) [31]. Bilban i wsp. postulują, że szybki wyrzut RFT oraz zmiany w ekspresji PPAR odgrywają zasadnicze znaczenie w przeciwzapalnym działaniu tlenu węgla, zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* [32].

APOPTOZA

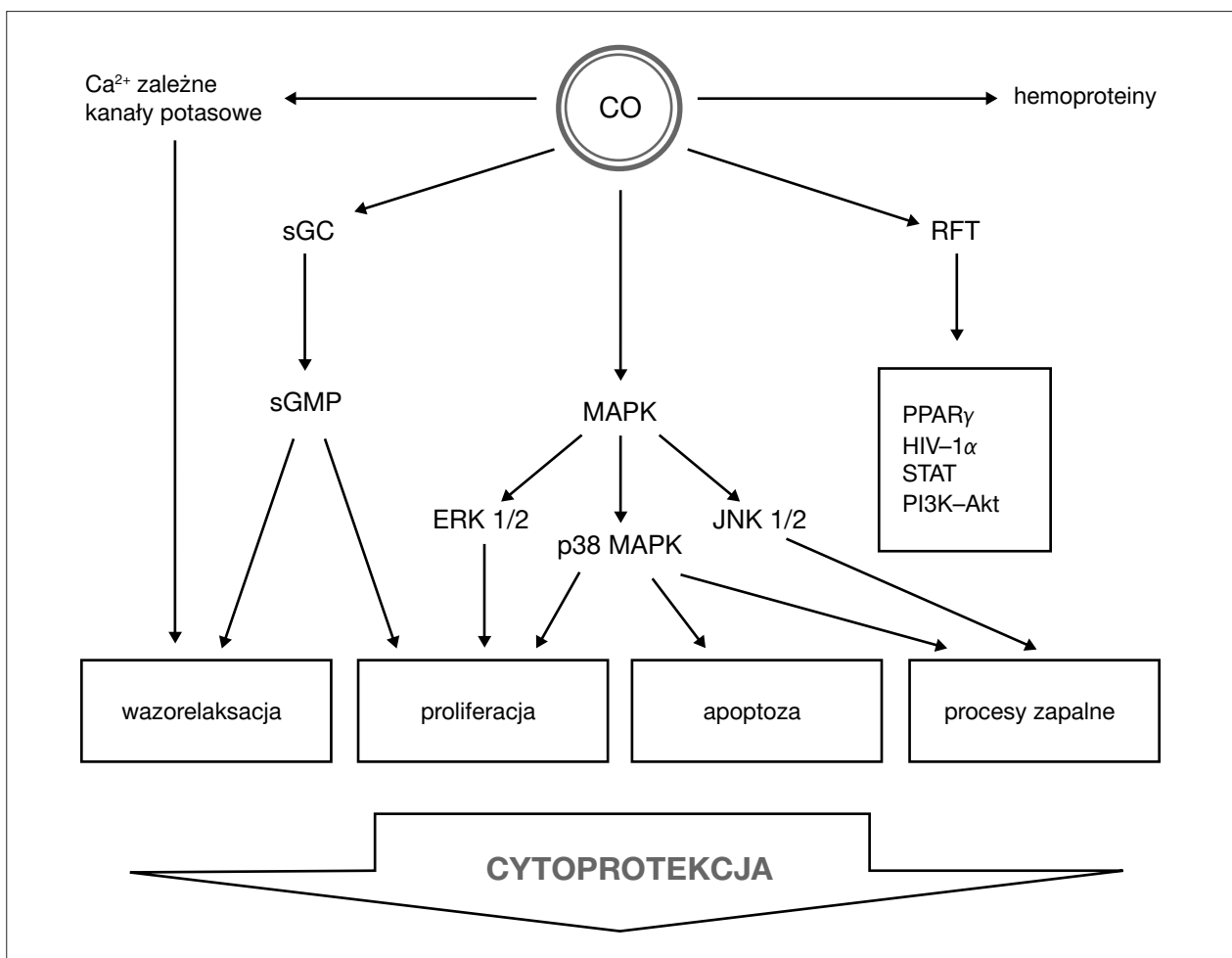
Apoptoza, nazywana programowaną śmiercią komórki, jest procesem fizjologicznej, śmierci komórek. Wśród najlepiej poznanych mechanizmów apoptozy wyróżnia się zewnętrzny szlak – receptorowy, który angażuje błonę komórkową, oraz szlak wewnętrzny – mitochondrialny [33]. Wykazano, że niewielkie stężenia tlenu węgla (250 ppm), modulują obydwa te szlaki sygnalizacyjne, wpływając na zahamowanie apoptozy [34]. Anty-apoptotyczne działanie CO wykazano w badaniach na hodowlach komórkowych fibroblastów i komórek śródbłonna. W obydwu modelach proces apoptozy indukowany TNF- α , został zahamowany z wykorzystaniem szlaku sygnalizacyjnego p38 MAPK [35, 36]. Anty-apoptotyczny efekt CO na komórkach ECs (komórki śródbłonna) może także polegać na aktywacji czynnika STAT 3 (przebieg sygnału i aktywator transkrypcji 3) za pośrednictwem kinazy PI3K/Akt i szlaku p53 MAPK i zahamowaniu ekspresji Fas i aktywności kaspazy 3 [37]. Podobne procesy obserwowano w komórkach śródbłonna tętnicy płucnej. Ochronny efekt CO związany był z aktywacją szlaku MKK3-p38 MAPK, a także zahamowaniem ekspresji FasL i receptora Fas [38]. Wang i wsp. wykazali, że w komórkach MLEC (mysie komórki śródbłonna płuc) tlenek węgla hamuje wewnętrzny szlak apoptotyczny poprzez zwiększenie fosforylacji białka Bad (białko promujące programowaną śmierć komórki) oraz promowanie powstawania kompleksu Bax z Bcl-XCL, blokującego uwalnianie cytochromu *c* z mitochondriów [39]. Z kolei Liu i wsp. w swoich badaniach przeprowadzonych na VSMC (komórki naczyń mięśni gładkich) przedstawili mechanizm, w którym CO aktywując sGC, blokuje uwalnianie cytochromu *c* oraz hamuje ekspresję proapoptotycznego białka p53, tym samym wykazuje anty-apoptotyczne właściwości [40]. Bezpośrednie zahamowanie procesów apoptotycznych w komórce przez tlenek węgla może odbywać się za pośrednictwem różnych szlaków sygnalizacyjnych, zależnie od użytego bodźca indukującego ten proces oraz komórki, w której zachodzi.

PROLIFERACJA

System CO/HO-1 może też zmieniać ekspresję i/lub aktywację czynników regulujących cykl komórkowy [23, 41]. Do tej pory na skutek działalności tlenku węgla potwierdzono zahamowanie proliferacji komórek nowotworowych, komórek T oraz VSMC [42].

Postuluje się, że CO i HO-1 modulują przebieg cyklu poprzez zatrzymanie komórek w fazie G₀/G₁ [13, 43]. Związane jest to z zahamowaniem aktywności cyklinozależnej kinazy 2, odpowiedzialnej za fosforylację cyklin A i E, zaangażowanych w przejście cyklu w fazę S i G₂/M. Tlenek węgla wpływa na aktywność Cdk2 (Cyklina 2 zależna od kinaz) hamując ekspresję cykliny A oraz D1, kluczowych białek aktywujących Cdk2 [13, 44]. Inny proponowany mechanizm regulacji cyklu komórkowego oparty jest na zwiększonej ekspresji białka p21, będącego inhibitorem Cdk2. Anty-proliferacyjny efekt CO może być również powiązany ze stymulacją aktywowanej mitogenem kinazy białkowej p38, poprzez indukcję sGC i wzrost poziomu cGMP. Aktywacja lub nadekspresja p38MAPK może skutkować zatrzymaniem cyklu komórkowego i przedwczesnym starzeniem się komórek [44, 45]. Ostatnie badania wskazują, że anty-proliferacyjne działanie CO może być regulowane przez kaweolinę-1, główny składnik strukturalny kaweoli, potencjalnie regulujących przekazywanie sygnałów komórkowych [46, 47]. Ponadto, zahamowanie aktywacji szlaku kinaz ERK1/2 może również stanowić jeden z mechanizmów biorących udział w inhibicji podziałów komórkowych. ERK1/2 należą do rodziny czynników transkrypcyjnych uczestniczących w cyklu komórkowym, które regulują ekspresję wielu genów między innymi tych, które są zaangażowane w proliferację komórek oraz kierują przejście z fazy G₁ do S [48].

CO może być również powiązany ze stymulacją aktywowanej mitogenem kinazy białkowej p38, poprzez indukcję sGC i wzrost poziomu cGMP. Aktywacja lub nadekspresja p38MAPK może skutkować zatrzymaniem cyklu komórkowego i przedwczesnym starzeniem się komórek [44, 45]. Ostatnie badania wskazują, że anty-proliferacyjne działanie CO może być regulowane przez kaweolinę-1, główny składnik strukturalny kaweoli, potencjalnie regulujących przekazywanie sygnałów komórkowych [46, 47]. Ponadto, zahamowanie aktywacji szlaku kinaz ERK1/2 może również stanowić jeden z mechanizmów biorących udział w inhibicji podziałów komórkowych. ERK1/2 należą do rodziny czynników transkrypcyjnych uczestniczących w cyklu komórkowym, które regulują ekspresję wielu genów między innymi tych, które są zaangażowane w proliferację komórek oraz kierują przejście z fazy G₁ do S [48].



Ryc. 2. Plejotropowy mechanizm działania tlenku węgla (CO) w organizmie. Opracowanie własne na podstawie Bilban i wsp., 2008

Fig. 2. Pleiotropic mechanism of action of carbon monoxide (CO) in the body. Own study based on Bilban et al., 2004

TLENEK WĘGLA – POTENCJALNY TERAPEUTYK

Przedstawione powyżej mechanizmy komórkowe oparte na aktywności tlenku węgla, pozwalają na postawienie tezy, że cząsteczka ta może znaleźć potencjalne zastosowanie w medycynie. Liczne badania przeprowadzone na modelach zwierzęcych zdają się potwierdzać pozytywne działanie CO w chorobach związanych z układem, nerwowym, immunologicznym, krwionośnym a także w transplantologii.

Tlenek węgla odgrywa kluczowe znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania mózgu. Do tej pory fizjologiczne funkcje, jakie przypisano tej cząsteczce to regulacja osi podwzgórze–przysadka–nadnercza, kontrola rytmu dobowego, adaptacja zmysłu węchu, słuchu, regulacja zachowań, pamięci oraz wizji, a także regulowanie wydzielania neuroendokrynnego [49]. Modułacja neuronowych szlaków metabolicznych warunkujących neuroprotekcję, wydaje się być zależna od dawki, czasu oraz sposobu podawania egzogenego CO [50]. Almeida i wsp. badając wpływ ekspozycji CO na pierwotną hodowlę astrocytów, wykazali, że cząsteczka ta poprawia metabolizm oksydacyjny komórek, zmniejsza zużycie glukozy oraz obniża produkcję mleczanu, wykazując m.in. działanie zapobiegające programowanej śmierci komórki [51]. Z kolei zespół badawczy Zeynalova badał wpływ wdychanego CO (125 ppm i 250 ppm) po 90 minutach od przejściowego ogniskowego niedokrwienia mózgu u myszy. Inhalacja CO natychmiast po rozpoczęciu reperfuzji skutkowała zmniejszeniem powierzchni zajętej przez zawał, obniżeniem obrzęku mózgu oraz poprawą deficytu neurologicznego [52]. Neuroprotektoryjne właściwości tlenku węgla potwierdzono także na świńskim modelu, poddanym zabiegowi krążenia pozaustrojowego, głębokiej hipotermii oraz zatrzymaniu krążenia. Zwierzęta poddane inhalacji CO przed zabiegiem, wykazywały znacznie mniejszy obszar apoptozy w korze mózgowej oraz hipokampie. Ponadto, w porównaniu do grupy kontrolnej, nie obserwowano zaburzeń metabolizmu, w tym zwiększenia wskaźnika tlenu/glukozy (OGI), wskaźnika mleczan/glukoza (GLI) oraz mózgowego ciśnienia perfuzyjnego [53]. Doniesienia o korzystnym działaniu CO na centralny układ nerwowy mogą wskazywać na kliniczne zastosowanie tej cząsteczki, jako środka neuroprotektoryjnego u pacjentów, u których zdiagnozowano choroby neurodegeneracyjne lub u których doszło do uszkodzenia mózgu na skutek urazu bądź udaru. Należy jednak pamiętać o toksycznej naturze tej cząsteczki, dlatego też dla osiągnięcia

pożądanego efektu, dawka oraz czas inkubowania tlenkiem węgla powinien być wyznaczany doświadczalnie [50].

Potencjalne terapeutyczne zastosowanie tlenku węgla, jako cząsteczki modulującej procesy immunologiczne może być przydatne przy długo utrzymujących się stanach zapalnych, stanowiących podłoże wielu przewlekłych schorzeń [54], tj. reumatoidalne zapalenie stawów [55], miażdżyca [56], choroba Alzheimera [57] zapalenie jelita grubego [58] oraz odrzucenie przeszczepu [59]. Stosowane obecnie strategie leczenia tych schorzeń są mało efektywne i konieczne jest poszukiwanie nowych czynników, które umożliwiłyby skuteczne modulowanie procesów immunologicznych zachodzących wewnątrz organizmu [60]. Przykładem potwierdzającym pozytywny wpływ tlenku węgla na procesy zapalne jest doświadczenie Pamplona'y i wsp. na mysim modelu malarii mózgowej. Podawanie egzogenego CO (250 ppm) zlikwidowało zaburzenia mikrokrążenia, krwotoki mózgowo oraz stany zapalne zainfekowanych zwierząt, a w konsekwencji chroniło je przed śmiercią. Efekty ochronne CO w tym modelu mogą być powiązane ze zmniejszeniem liczby limfocytów T CD8⁺ obecnych w mózgu oraz zapobieganiem przed uwalnianiem wolnego hemu, który w infekcji wywołanej malarią, jest akumulowany w osoczu [61]. W doświadczeniu przeprowadzonym przez Otterbeina i jego zespół, zaprezentowano wpływ tlenku węgla na procesy zapalne płuc spowodowane hiperoksją. Myszy i szczury inkubowano w środowisku, gdzie dostępność tlenu wynosiła powyżej 95%. Takie warunki doprowadziły do rozwoju zapalenia płuc, charakteryzującego się obrzękiem, napływem neutrofilii, wysiękiem opłucnowym oraz wzrostem markerów apoptotycznych. Wśród zwierząt, którym podano tlenek węgla w stężeniu 250 ppm, czas życia został wydłużony. Podawanie CO obniżyło również występowanie markerów histologicznych, charakterystycznych dla uszkodzenia płuc [62]. Jednak, wstępne badania przedkliniczne przeprowadzone na ludzkim modelu endotoksemii nie potwierdzają immunomodulacyjnych właściwości tlenku węgla. Godzinna inhalacja CO w dawce 500 ppm nie miała wpływu na ogólnoustrojowe zapalenie. Natomiast na modelu mysim, CO (250 ppm) niwelował aktywność LPS (lipopolisacharyd). Dlatego też, do pełnego zrozumienia farmakokinetyki oraz długo i krótkotrwałych skutków ekspozycji na CO w niezbędne jest prowadzenie dalszych badań [54].

Ostatnie doniesienia wskazują także na silnie cytoprotekcyjną aktywność tlenku węgla w dziedzinie

transplantacji tkanek oraz narządów. Ochronne działanie CO wykazano w przypadku przeszczepu naczyń krwionośnych, serca, nerek, wątroby a także płuc [63–67]. Niepowodzenie przeszczepu narządów zależy od kilku czynników. Kluczowe znaczenie odgrywają reakcje na tle immunologicznym oraz uszkodzenia niedokrwiennie-reperfuzyjne (I/R) [68, 69]. Tlenek węgla, wykazując działanie przeciwzapalne, anty-apoptotyczne oraz anty-proliferacyjne, może zapobiegać urazom niedokrwiennie-reperfuzyjnymi i odrzucaniu przeszczepu [70]. Podczas przeszczepu płuc u szczurów, stosowanie egzogenego CO (500 ppm) znacząco wpłynęło na przyjęcie się przeszczepu. Tlenek węgla obniżył występowanie krwotoków, skrzepów i zwłóknienia tkanki powstałych po zabiegu [71]. Ponadto, w modelu przeszczepu aorty, zwierzęta poddane inkubacji CO (250 ppm) przed zabiegiem, wykazywały zmniejszony rozrost błony wewnętrznej oraz ograniczoną powierzchnię nacieku zapalnego powodowanego przez leukocyty [72].

Funkcje ochronne tlenku węgla przejawiane wobec narządów, w tym serca, skłoniły do postawienia wniosku, że gaz ten może również modulować funkcje układu krwionośnego. Bezpośrednie działanie farmakologiczne CO w układzie sercowo-naczyniowym związane jest prawdopodobnie z modulacją napięcia naczyń krwionośnych oraz procesem angiogenezy [54, 8]. Zespół doświadczalny Hangai-Hogera wykazał, *in vivo*, że tlenek węgla wykazuje działanie wazodylatacyjne, a także poprawia hemodynamikę mikrokrążenia poprzez zwiększenie średnicy naczyń, szybkości przepływu krwinek czerwonych [73]. Wiele danych wskazuje, że aktywność CO powodująca relaksację naczyń krwionośnych oparta jest na mechanizmie cGMP [6].

Do tej pory przeprowadzono kilka eksperymentów opisujących wpływ podawania egzogenego tlenku węgla u ludzi [71, 74, 75]. W związku z tym, że istnieją pewne obawy związane z bezpieczeństwem stosowania tlenku węgla, koncerny farmaceutyczne prowadzą badania mające na celu ustalenie dawkowania, które pozwoli uniknąć toksycznego efektu. INO Therapeutics LLC zbadało bezpieczeństwo oraz tolerancję pojedynczych dawek tlenku węgla (0,2; 0,75; 2,0; 2,3 i 3,0 mg/kg/h) po godzinnej inhalacji na zdrowych ochotnikach. Uzyskane wyniki wskazały, że wszystkie dawki były dobrze tolerowane i nie powodowały zaburzeń metabolicznych ani neurologicznych [50]. Obecnie prowadzone badania kliniczne z wykorzystaniem egzogenego tlenku węgla dotyczą terapii kilku modeli chorobowych, które przedstawiono w Tabeli I [76].

Tabela I. Przykłady wykorzystanie tlenku węgla w modelach chorobowych.

Table I. Examples of the use of carbon monoxide in disease models.

Model chorobowy	(NCT) Numer przypisany badaniu klinicznemu w bazie danych ClinicalTrials.gov
Zespół ostrej niewydolności oddechowej (ARDS)	NCT00094406
Przewlekła obturacyjna choroba płuc (COPD)	NCT00122694
Tętnicze nadciśnienie płucne (PAH)*	NCT01523548
Idiopatyczne zwłóknienie płuc (IPF)*	NCT01214187
Pooperacyjna niedrożność jelit (POI)	NCT01050712
Choroby serca	NCT01727167

* badanie w toku (jeszcze nie rekrutuje pacjentów)

PODSUMOWANIE

Przedstawione powyżej przykłady wskazują, że wytwarzany endogennie tlenek węgla jest substancją niezbędną dla poprawnego funkcjonowania układów biologicznych. Cytoprotekcyjny wpływ tlenku węgla potwierdzono w szeregu badań przeprowadzonych zarówno na modelach *in vitro* i *in vivo* (Tabela II). Różnice pojawiające się w odpowiedziach fizjologicznych między komórkami, gryzoniami, wyższymi naczelnymi i człowiekiem, skłaniają do prowadzenia dalszych obserwacji. Warto zaznaczyć, że jedynie w niewielkich stężeniach 250–500 ppm tlenek węgla wykazuje działanie ochronne, dawki znacząco przekraczające te wartości zmieniają charakter tej cząsteczki i nadają jej właściwości toksyczne. Dodatkowe badania z pewnością umożliwią też określenie skuteczności i bezpieczeństwa stosowania tlenku węgla, jako środka terapeutycznego. W przyszłości leki oparte na mechanizmach aktywności CO mogłyby posłużyć w leczeniu chorób układu krwionośnego, neurologicznego, immunologicznego, a nawet w transplantologii.

Tabela II. Cytoprotekcyjny mechanizm tlenku węgla w układach *in vitro* i *in vivo*.Table II. Cytoprotective mechanism of carbon monoxide in *in vitro* and *in vivo*.

<i>In vitro</i>				
Aktywność	Model	Koncentracja /dawka	Wynik	Bibliografia
Przeciwpalna	Makrofagi RAW 264.7	250 ppm	– zwiększenie poziomu reaktywnych form tlenu; – obniżenie poziomu wewnątrzkomórkowego glutationu; – zmniejszenie poziomu TNF- α ; – zahamowanie aktywności oksydazy cytochromu c;	Zuckerbrauni in. [22]
	Makrofagi RAW 264.7	0–500 ppm	– zmniejszenie poziomu TNF- α ; – zahamowanie produkcji cytokiny zapalnej IL-1;	Otterbein i in. [29]
	Makrofagi RAW 264.7 Ludzkie embrionalne komórki nerki 293FT	250 ppm	– gwałtowny wyrzut wewnątrzkomórkowych RFT; – potranslacyjne modyfikacje receptora PPAR γ ; – obniżenie ekspresji genu iNOS na poziomie mRNA;	Haschemi i in. [31]
Antyapoptotyczna	MLEC (mysie komórki śródbłonna płuc)	250 ppm	– zahamowanie procesu programowanej śmierci komórkowej; – inhibicja aktywacji kaspazy 3; – wzrost fosforylacji białka Bad; – promowanie formowania kompleksu Bax z Bcl-XCL; – zahamowanie uwalniania cytochromu c;	Wang i in. [34]
	VSMC (komórki naczyń mięśni gładkich)	50–200 ppm	– obniżenie aktywności kaspazy 3; – zablokowanie translokacji cytochromu c; – inhibicja ekspresji genu p53;	Liu i in. [40]
Antyproliferacyjna	VSMC (komórki naczyń mięśni gładkich)	250 ppm	– zahamowanie proliferacji komórek; – zwiększenie ekspresji genu Cav-1; – zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G ₀ /G ₁ ;	Kim i in. [42]
	HASMC (ludzkie komórki mięśni gładkich oskrzeli)	250 ppm	– zahamowanie proliferacji komórek; – zatrzymanie cyklu komórkowego w punkcie G ₀ /G ₁ ; – zwiększenie ekspresji inhibitora kinazy cyklicznej p21; – zahamowanie ekspresji cykliny D1;	Song i in. [78]
<i>In vivo</i>				
Układ narządowy	Model	Koncentracja /dawka	Wynik	Bibliografia
Układ neurologiczny	Myszyszczep C57BL/6	125 ppm, 250 ppm	– zmniejszenie powierzchni niedokrwienia mózgu; – poprawa deficytu neurologicznego; – zmniejszenie powstawania obrzęków mózgu wywołanych zawałem;	Zeynalov i in. [52]
	Świnie rasy Yorkshire	250 ppm	– modulowanie metabolizmu mleczanu i glukozy w mózгах zwierząt; – zahamowanie procesów apoptotycznych w hipokampie;	Mahan i in. [53]

Układ immunologiczny	Myszy szczep C57BL/6 oraz BALB/c	250 ppm	<ul style="list-style-type: none"> – zmniejszenie odsetka niedrożnych naczyń włosowatych; – zahamowanie ekspresji genów dla TNF, limfotoksyny-α oraz IFN-γ; – zahamowanie ekspresji cząstek adhezji międzykomórkowej oraz cząstek adhezji naczyniowej; – zmniejszenie całkowitej liczby uwalnianych limfocytów T w mózgu; – zahamowanie napływu monocytów/makrofagów do mózgu; – zapobieganie utlenianiu się hemoglobiny oraz uwalnianiu wolnego hemu.; 	Pamplona i in. [61]
	Szczury rasy Sprague-Dawley	50–500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> – wydłużenie czasu życia zwierząt; – hamowanie powstawania wysięku opłucnej; – zmniejszenie akumulacji białka w płynie BAL; – zmniejszenie napływu neutrofilów; – obniżenie indeksu apoptotyczny komórek płuc. 	Otterbein i in. [62]
Układ sercowo-naczyniowy	Chomiki rasy Golden Syrian	2.5%, 5%, 20% CO w soli fizjologicznej	<ul style="list-style-type: none"> – zwiększenie gęstości sieci naczyń włosowatych; – poprawa hemodynamiki mikrokrążenia; – zwiększenie pojemności minutowej serca; – wzrost stężenia cGMP w tkankach komory serca. 	Hangai-Hoger i in. [69]
Transplantacje	Szczury rasy Lewis (LEW; RT1l) oraz Brown-Norway (BN; RT1n)	20 ppm	<ul style="list-style-type: none"> – zahamowanie rozwoju przewlekłych zmian w strukturze nerek; – obniżenie poziomu nekrozy kłębuszków nerkowych; – wzrost ekspresji IL-2 na poziomie mRNA; – obniżenie ekspresji genów dla chemokin oraz ich receptorów; 	Netoi in. [64]
	Szczury rasy Lewis (LEW) oraz Brown-Norway (BN)	500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> – zahamowanie krwotoków w tkankach płuc zwierząt; – obniżenie poziomu zwłóknień oraz występowanie skrzepów; – zahamowanie ekspresji genu dla IL-6 na poziomie mRNA; 	Songi in. [66]

PIŚMIENNICTWO

- [1] Guzman J.A.: Carbon Monoxide Poisoning. *Crit Care Clin* 2012; 28(4): 537-548.
- [2] Coburn R.F., Blakemore W.S., Forster R.E.: Endogenous Carbon Monoxide Production In Man. *J Clin Invest* 1963; 42(7): 1172-1178.
- [3] Wu L., Wang R.: Carbon Monoxide: Endogenous Production, Physiological Functions, and Pharmacological Applications. *Pharmacol Rev* 2005; 57(4): 585-630.
- [4] Bilban M., Haschemi A., Węgiel B. i wsp.: Heme oxygenase and carbon monoxide initiate homeostatic signaling. *J Mol Med* 2008; 86: 267-279.
- [5] Dulak J., Józkowicz A.: Carbon monoxide – a “new” gaseous modulator of gene expression. *Acta Biochim Pol* 2003; 50(1): 31-47.
- [6] Vreman H.J., Wong R.J., Stevenson D.K.: Sources, sinks and measurement of carbon monoxide (w:) Wang R (ed.): Carbon monoxide and cardiovascular functions. CRC Press, Washington 2002: 45-65.
- [7] Ryter S.W. Otterbein L.E.: Carbon monoxide in biology and medicine. *BioEssays* 2006; 26: 270-280.
- [8] Bełtowski J., Jamroz A., Borkowska E.: Oksygenaza hemowa i tlenek węgla w fizjologii i patologii układu krążenia. *Postep Hig Med Dosw* 2004; 58: 83-99.
- [9] Kajimura M., Goda N., Suematsu M.: Organ design for generation and reception of CO: Lessons from the liver. *Atiox Redox Signal* 2002; 4: 633-637.
- [10] Chau L.Y.: Heme oxygenase – 1: emerging target of cancer therapy. *J Biomed Sci* 2015; 22:22.
- [11] Otterbein L.E., Choi A.M.K.: Heme oxygenase: colors of defense against cellular stress. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279: 1029-1037.
- [12] Exner M., Minar E., Wagner O. i wsp.: The role of heme oxygenase-1 promoter polymorphisms in human disease. *Free Radic Biol Med* 2004; 37: 1099-1104.
- [13] Tadiusiewicz J., Olas B.: Tlenek Azotu i Tlenek Węgla – Dwa Ważne Gazotransmitery. *Kosmos* 2014; 64(4): 543-554.
- [14] Jasnos K., Magierowski M., Kwiecień S. i wsp.: Tlenek węgla w fizjologii organizmu człowieka – rola w układzie pokarmowym. *Postep Hig Med Dosw* 2014; 68: 101-109.
- [15] Ingi T., Cheng J., Ronnett G.V.: Carbon Monoxide: An Endogenous Modulator of the Nitric Oxide – Cyclic GMP Signaling System. *Neuron* 1996; 16: 835-842.

- [16] Thorup C, Jones C.L., Gross S.S. i wsp.: Carbon monoxide induces vasodilation and nitric oxide release but suppress endothelial NOS. *Am J Physiol* 1999; 277(6): 882-889.
- [17] Wang R, Wang Z., Wu L.: Carbon monoxide – induced vasorelaxation and the underlying mechanisms. *Br J Pharmacol* 1997; 121(5): 927-934.
- [18] Durante W, Schafer A.I.: Carbon monoxide and vascular cell function. *Int J Mol Med* 1998; 2: 255-262.
- [19] Morita T, Mitsialis S.A., Koike H. i wsp.: Carbon monoxide controls the proliferation of hypoxic vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1997; 272: 32804-32809.
- [20] Rochette L, Cottin Y, Zeller M. i wsp.: Carbon monoxide: Mechanisms of action and potential clinical implications. *Pharmacol Ther* 2013; 137(2): 133-152.
- [21] Almeida A.S., Figueiredo-Pereira C, Vieira H.L.A.: Carbon monoxide and mitochondria – modulation of cell metabolism, redox response and cell death. *Front Physiol* 2015; 33(6).
- [22] Zuckerbraun B.S., Chin B.Y., Bilban M. i wsp.: Carbon monoxide signals via inhibition of cytochrome c oxidase and generation of mitochondrial reactive oxygen species. *FASEB J* 2007; 21(4): 1099-1106.
- [23] Ryter S.W., Morse D, Choi A.M.K.: Carbon monoxide and Bilirubin. Potential Therapies for Pulmonary/Vascular Injury and Disease. *Am J Resp Cell Mol Biol* 2007; 36: 175-182.
- [24] Wang R, Wu L.: The chemical modification of KCa channels by carbon monoxide in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1997; 272: 8222-8226.
- [25] Dallas M.L., Scragg J.L., Peers C.: Inhibition of L-type Ca(2+) channels by carbon monoxide. *Adv Exp Med Biol* 2009; 648, 89-95.
- [26] Foresti R, Motterlini R.: The heme oxygenase pathway and its interaction with nitric oxide in the control of cellular homeostasis. *Free Radic Res* 1999; 31: 459-475.
- [27] Dioum E.M., Rutter J, Tuckerman J.R. i wsp.: NPAS2: a gas-responsive transcription factor. *Science* 2002; 298: 2385-2387.
- [28] Lee T.S., Chau L.Y.: Heme oxygenase-1 mediates the anti-inflammatory effect of interleukin-10 in mice. *Nat Med* 2002; 8(3): 240-246.
- [29] Otterbein L.E., Bach F.H., Alam J. i wsp.: Carbon monoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway. *Nature* 2000; 6(4): 422-428.
- [30] Cuenda A., Rousseau S.: p38 MAP-Kinases pathway regulation, function and role in human diseases. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773(8): 1358-1375.
- [31] Haschemi A., Chin B.Y., Jeitler M. i wsp.: Carbon Monoxide Induced PPAR SUMOylation and UCP2 Block Inflammatory Gene Expression in Macrophages. *PLoS ONE* 2011; 6(10).
- [32] Bilban M., Bach F.H., Otterbein S.L. i wsp.: Carbon Monoxide Orchestrates a Protective Response through PRAR. *Immunity* 2006; 24: 601-610.
- [33] Stępień A., Izdebska M., Grzanka A.: Rodzaje śmierci komórki. The types of cell death. *Postep Hig Med Dosw* 2007; 61: 420-428.
- [34] Wang X., Wang Y., Kim H.P. i wsp.: Carbon Monoxide Protects against Hyperoxia-induced Endothelial Cell Apoptosis by Inhibiting Reactive Oxygen Species Formation. *J Biol Chem* 2007; 282(3): 1718-1726.
- [35] Petrache I., Otterbein L.E., Alam J. i wsp.: Heme oxygenase-1 inhibits TNF-alpha-induced apoptosis in cultured fibroblasts. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 278(2): 312-319.
- [36] Brouard S., Otterbein L.E., Anrather J. i wsp.: Carbon Monoxide Generated by Heme Oxygenase 1 Suppresses Endothelial Cell Apoptosis. *J Exp Med* 2000; 192(7): 1015-1026.
- [37] Zhang X., Shan P., Alam J. i wsp.: Carbon monoxide differentially modulates STAT1 and STAT3 and inhibits apoptosis via a phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and p38 kinase-dependent STAT3 pathway during anoxia-reoxygenation injury. *J Biol Chem* 2005; 280: 8714-21.
- [38] Zhang X., Shan P., Alam J. i wsp.: Carbon monoxide modulates Fas/Fas ligand, caspases, and Bcl-2 family proteins via the p38alpha mitogen-activated protein kinase pathway during ischemia-reperfusion lung injury. *J Biol Chem* 2003; 278(24): 22061-22070.
- [39] Wang X., Wang Y., Lee S.J. i wsp.: Carbon monoxide inhibits Fas activating antibody-induced apoptosis in endothelial cells. *Med Gas Res* 2011; 1: 8.
- [40] Liu X.M., Chapman G.B., Peyton K.J. i wsp.: Carbon monoxide inhibits apoptosis in vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res* 2002; 55(2): 396-405.
- [41] Wąs H., Dulak J., Józkwicz A.: Heme oxygenase – 1 in Tumor Biology and Therapy. *Curr Drug Targets* 2010; 11: 1551-1570.
- [42] Kim H.P., Ryter S.W., Choi A.M.K.: CO as a cellular signaling molecule. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2006; 46: 411-449.
- [43] Bai F.H., Qi N.N., Wu C.X. i wsp.: A New Insight into the Effect of Heme Oxygenase-1 in Progress of Malignant Tumors. *J Gastroenterol Hepatol Res* 2013; 2(1): 353-358.
- [44] Durante W, Johnson F.K., Johnson R.A.: Role of carbon monoxide in cardiovascular function. *J Cell Mol Med* 2006; 10(3): 672-686.
- [45] Józkwicz A., Wąs H., Dulak J.: Heme Oxygenase – 1 in Tumors: Is a False Friend?. *Antioxid Redox Signal* 2007; 9(12): 2099-2117.
- [46] Kim H.P., Wang X., Nakao A. i wsp.: Caveolin-1 expression by means of p38 mitogen-activated protein kinase mediates the anti-proliferative effect on carbon monoxide. *PNAS* 2005; 102(35): 11319-11324.
- [47] Dallas M.L., Boyle J.P., Milligan C.J. i wsp.: Carbon monoxide protects against oxidant-induced apoptosis via inhibition of Kv2. *FASEB J* 2011; 25: 1519-1530.
- [48] Wu L, Wang R. Carbon Monoxide: Endogenous Production, Physiological Functions, and Pharmacological Applications. *Pharmacol Rev* 2005; 57:585-630.
- [49] Mahan V.L.: Neuroprotective, neurotherapeutic, and neuro-metabolic effects of carbon monoxide. *Med Gas Res* 2012; 2: 32.
- [50] Almeida A.S., Queiroga C.S., Sousa M.F. i wsp.: Carbon monoxide modulates apoptosis by reinforcing oxidative metabolism in astrocytes: role of Bcl-2. *J Biol Chem* 2012; 287(14): 10761-10770.
- [51] Zeynalov E, Doré S.: Low doses of carbon monoxide protect against experimental focal brain ischemia. *Neurotox Res* 2009; 15(2): 133-137.
- [52] Mahan V.L., Zurakowski D, Otterbein L.E. i wsp.: Inhaled carbon monoxide provides cerebral cytoprotection in pigs. *PLoS One* 2012; 7:e41982.
- [53] Foresti R, Bani-Hani M.G., Motterlini R.: Use of carbon monoxide as a therapeutic agent: promises and challenges. *Intensive Care Med* 2008, 34: 649-658.
- [54] McInnes I.B., Schett G.: The pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med* 2011; 365: 2205-2219.
- [55] Hansson G.K., Libby P., Schonbeck U. i wsp.: Innate and Adaptive Immunity in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Circ Res* 2002, 91: 281-291.

- [56] McGeer P.L., McGeer E.G.: Inflammation, autotoxicity and Alzheimer disease. *Neurobiol Aging* 2001; 22(6): 799-801.
- [57] Hanauer S.B.: Inflammatory bowel disease: Epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 3-9.
- [58] Rocha P.N., Plumb T.J., Crowley S.D. i wsp.: Effector mechanisms in transplant rejection. *Immunol Rev* 2003; 196(1): 51-64.
- [59] Frank A.D., Wagener T.G., Volk H.D. i wsp.: Different Faces of the Heme-Heme Oxygenase System in Inflammation. *Pharmacol Rev* 2003; 55(3): 551-571.
- [60] Pamplona A., Ferreira A., Balla J. i wsp.: Heme oxygenase-1 and carbon monoxide suppress the pathogenesis of experimental cerebral malaria. *Nature* 2007; 13(9): 703-710.
- [61] Otterbein L.E., Mantell L.L., Choi A.M.K.: Carbon monoxide provides protection against hyperoxic lung injury. *Am J Physiol* 1999; 276(4): 688-694.
- [62] Chauveau C., Bouchet D., Roussel J.C. i wsp.: Gene transfer of heme oxygenase-1 and carbon monoxide delivery inhibit chronic rejection. *Am J Transplant* 2002; 2: 581-592.
- [63] Neto J.S., Nakao A., Toyokawa H. i wsp.: Low-dose carbon monoxide inhalation prevents development of chronic allograft nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290: 324-334.
- [64] Ke B., Buelow R., Shen X.D. i wsp.: Heme oxygenase 1 gene transfer prevents CD95/Fas ligand-mediated apoptosis and improves liver allograft survival via carbon monoxide signaling pathway. *Hum Gene Ther* 2002; 13: 1189-1199.
- [65] Song R., Kubo M., Morse D. i wsp.: Carbon monoxide induces cytoprotection in rat orthotopic lung transplantation via anti-inflammatory and anti-apoptotic effects. *Am J Pathol* 2003; 163: 231-42.
- [66] Martins P.N., Reuzel-Selke A., Jurisch A. i wsp.: Induction of carbon monoxide in the donor reduces graft immunogenicity and chronic graft deterioration. *Transplant Proc* 2005; 37: 379-381.
- [67] Ryter S.W., Choi A.M.K.: Carbon monoxide: present and future indications for a medical gas. *Korean J Intern Med* 2013; 28: 123-140.
- [68] Nakao A., Choi A.M.K., Murase N.: Protective effect of carbon monoxide in transplantation. *J Cell Mol Med* 2006; 10(3): 650-671.
- [69] Sato K., Balla J., Otterbein L. i wsp.: Carbon monoxide generated by heme oxygenase – 1 suppresses the rejection of mouse – to – rat cardiac transplants. *J Immunol* 2001; 166: 4185-4194.
- [70] Hangai-Hoger N., Tsai A.G., Cabrales P. i wsp.: Microvascular and systemic effects following top load administration of saturated carbon monoxide-saline solution. *Crit Care Med* 2007; 35:1123-1132.
- [71] Bathoorn E., Slebos D.J., Postma D.S. Anti-inflammatory effects of inhaled carbon monoxide in patients with COPD: a pilot study. *Eur Respir J* 2007; 30(6): 1131-1137.
- [72] Nakahira K., Choi A.M.K.: Carbon monoxide in the treatment of sepsis. *Am J Physiol* 2015; 309(12): 1387-1393.
- [73] Mayr F.B., Spiel A., Leitner J. i wsp.: Effects of carbon monoxide inhalation during experimental endotoxemia in humans. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171(4): 354-360.
- [74] <http://clinicaltrials.gov> (access: 19.03.2016)
- [75] Song R., Kubo M., Morse D.: Carbon monoxide induces cytoprotection in rat orthotopic lung transplantation via anti-inflammatory and anti-apoptotic effects. *Am J Pathol* 2003; 163: 231-242.
- [76] Otterbein L.E., Zuckerbraun B.S., Haga M.: Carbon monoxide suppresses arteriosclerotic lesions associated with chronic graft rejection and with balloon injury. *Nat Med* 2003; 9: 183-190.
- [77] Song R., Mahidhara R.S., Liu F. i wsp.: Carbon Monoxide Inhibits Human Airway Smooth Muscle Cell Proliferation via Mitogen-Activated Protein Kinase Pathway. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 27: 603-610.

Adres do korespondencji:

*dr hab. n. med. Lucyna Kapka-Skrzypczak
Wyższa Szkoła Informatyki i Zarządzania w Rzeszowie
Wydział Medyczny
Katedra Biologii Medycznej i Badań Translacyjnych
ul. Sucharskiego 2, 35-225 Rzeszów
e-mail: lucynakapka@gmail.com*