

**MONÓXIDO DE CARBONO PRODUCIDO
ENDÓGENAMENTE:
MEDIADOR BIOQUÍMICO**

María del Valle Sánchez-Matamoros Piazza

**Facultad de Farmacia
Universidad de Sevilla**

UNIVERSIDAD DE SEVILLA



FACULTAD DE FARMACIA

TRABAJO FIN DE GRADO

GRADO EN FARMACIA

**MONÓXIDO DE CARBONO PRODUCIDO ENDÓGENAMENTE:
MEDIADOR BIOQUÍMICO**

Autora: María del Valle Sánchez-Matamoros Piazza

Tutora: Dra. Consuelo Santa María Pérez

Tipología del trabajo: Revisión bibliográfica

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular
Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla

Sevilla, 7 de Julio de 2016

ÍNDICE

1.	RESUMEN.....	2
2.	OBJETIVOS	5
3.	METODOLOGÍA.....	5
4.	ANTECEDENTES.....	6
4.1.	Introducción.....	6
4.2.	Antecedentes históricos	7
5.	MONÓXIDO DE CARBONO.....	7
5.1.	Origen del monóxido de carbono.....	7
5.1.1.	Especies reactivas de oxígeno	9
5.1.2.	Capacidad oxidante del grupo hemo.....	11
5.2.	Mecanismo de acción del monóxido de carbono.....	12
5.2.1.	Guanilato ciclasa	14
6.	VALOR TERAPÉUTICO.....	19
6.1.	CO de producción endógena como marcador de la enfermedad	20
6.2.	Toxicología del monóxido de carbono.....	21
6.3.	CO como terapia inhalatoria.....	22
6.3.1.	Endotoxemia y sepsis.....	23
6.3.2.	Lesión pulmonar aguda	23
6.3.3.	Lesión pulmonar inducida por ventilación	24
6.3.4.	Lesión por isquemia-reperfusión y trasplante de órganos.....	24
6.3.5.	Hipertensión pulmonar.....	25
6.3.6.	Fibrosis pulmonar idiopática	26
6.3.7.	Diabetes y síndrome metabólico	26
6.3.8.	Preeclampsia.....	27
6.4.	Aplicación farmacología del uso de CO	27
6.5.	Ensayos clínicos del CO.....	29
7.	CONCLUSIONES.....	31
8.	BIBLIOGRAFÍA	32

1. RESUMEN

El monóxido de carbono (CO), molécula gaseosa de bajo peso molecular diatómica, es actualmente una promesa para aplicaciones terapéuticas.

Si bien el CO a altas concentraciones supone un riesgo tóxico, a concentraciones fisiológicas tiene un papel importante en las vías de señalización celular, regulación de procesos biológicos, propiedades antiinflamatorias, antiapoptóticas, antiproliferativas y vasoreguladoras entre otras.

La producción endógena de CO proviene mayoritariamente de la degradación del grupo hemo, el cual, es degradado por el sistema enzimático de la hemoxigenasa (HO), para generar biliverdina-IX α , CO e hierro ferroso. Estos tres productos finales pueden contribuir en mecanismos citoprotectores.

En la sangre, el CO se une a la hemoglobina para formar carboxihemoglobina (COHb) con una afinidad de unión de aproximadamente 200 a 250 veces mayor que la del oxígeno. Las exposiciones prolongadas al CO pueden causar efectos clínicos agudos, como náuseas, mareos y pérdida de la conciencia, pudiendo ocasionar la muerte en intoxicaciones mayores.

El CO endógeno se puede utilizar como marcador de la enfermedad ya que se especula que la medición de los niveles en las primeras etapas de estados patológicos podría ser crucial en la comprensión y predicción de los resultados, como marcador de la inflamación o en enfermedades específicas.

Recientemente se han realizado estudios con el CO como terapia inhalatoria y con su aplicación farmacológica mediante el uso de moléculas liberadoras de CO (CORMs), con el objetivo terapéutico en enfermedades que implican inflamación, incluyendo lesión vascular, sepsis, lesión por isquemia-reperfusión y rechazo de trasplante.

PALABRAS CLAVES

Monóxido de carbono, hemoxigenasa, antiapoptótico, antiinflamatorio, antiproliferativo, vasoregulador.

ABSTRACT

Carbon monoxide (CO), a diatomic low molecular weight gas, is currently a promise for therapeutic applications.

While CO at high concentrations is a toxic hazard, at physiological concentrations it has an important role in signaling cell pathways, regulation of biological processes, anti-inflammatory, anti-apoptotic, antiproliferative and vascular regulation among others.

The endogenous production of CO comes mainly from the degradation of heme group, which is degraded by the heme oxygenase enzyme system (HO) to generate biliverdin-IX α , CO and ferrous iron. These three final products can contribute to cytoprotective mechanisms.

In the blood, CO binds to hemoglobin to form carboxyhemoglobin (COHb) with a binding affinity around 200 to 250 times greater than that of oxygen. Prolonged exposure to CO can cause acute clinical effects, such as nausea, dizziness and loss of consciousness, or death in cases of high levels of poisoning.

Endogenous CO can be used as a marker of disease as it is speculated that the measurement of levels at the early stages of disease states could be crucial in the understanding and prediction of the results, as a marker of inflammation or in specific diseases.

Recently studies have been performed with CO as inhalation therapy and pharmacological application by using releasing molecules (CORMs) with therapeutic target in diseases involving inflammation, including vascular injury, sepsis, injury ischemia-reperfusion and transplant rejection.

KEYWORDS

Carbon monoxide, heme oxygenase, antiapoptotic, antiinflammatory, antiproliferative, vascular regulation.

ABREVIATURAS

CO, monóxido de carbono

CO-Hb, carboxihemoglobina

CORMs, moléculas liberadoras de CO

EGR-1, factor de transcripción proinflamatorio

GCs, guanilato ciclasa soluble

GCp, guanilato ciclasa particulada

GMPc, guanosín monofosfato cíclico

HO, hemoxigenasa

HO-1, hemoxigenasa-1

HO-2, hemoxigenasa-2

IL-1 β , interleucina- 1 β

IL-6, interleucina- 6

IL-10, interleucina- 10

I/R, isquemia-reperfusión

LPS, lipopolisacáridos

MAPK, proteínas quinasas activadas por mitógenos

NF- κ B, factor nuclear de las cadenas kappa de las células B

NO, óxido nítrico

NOS, óxido nítrico sintasa

PKG, proteína quinasa G

ROS, especies reactivas de oxígeno

TNF- α , factor de necrosis tumoral- α

2. OBJETIVOS

1. Realizar una revisión bibliográfica de los conocimientos actuales en relación al monóxido de carbono.
2. Estudiar los mecanismos de acción del CO en el organismo.
3. Exponer la toxicología propia del monóxido de carbono.
4. Revisar los estudios actuales de la terapia farmacológica.
5. Describir las perspectivas futuras del CO.

3. METODOLOGÍA

La metodología a seguir para realizar esta revisión bibliográfica ha consistido en una intensa búsqueda, utilizando para ello como principal fuente de información la base de datos MEDLINE y PubMed.

Para acotar los resultados en un primer momento se utilizaron varias palabras clave como “carbón monoxide” y “heme oxygenase-1”.

Tras revisar varias publicaciones de interés, se seleccionaron las de más reciente publicación y aquellas de los grupos más señalados. Entre los autores con más experiencia en el tema y se encuentra **Ryter SW** que cuenta con 53 entradas y es el autor con la publicación más reciente. Este autor ha realizado su labor de investigación en el Hospital Brigham&Women’s, en la división de Medicina Pulmonar y Cuidados Críticos, en Boston Massachusetts.

Por el número de entradas y publicaciones se podría decir que los autores principales del CO son **Otterbein LE** y **Choi AM** con 87 y 99 entradas respectivamente. Realizando sus investigaciones en el Hospital de Medicina de Harvard (Massachussets).

Cabe destacar también la revisión realizada por **Lee PJ** en 2013 sobre las aplicaciones terapéuticas del monóxido de carbono en la Facultad de Medicina de la Universidad de Yale, así como las publicaciones de Motterlini R y otros autores como Morita T y Zhang X.

4. ANTECEDENTES

4.1. Introducción

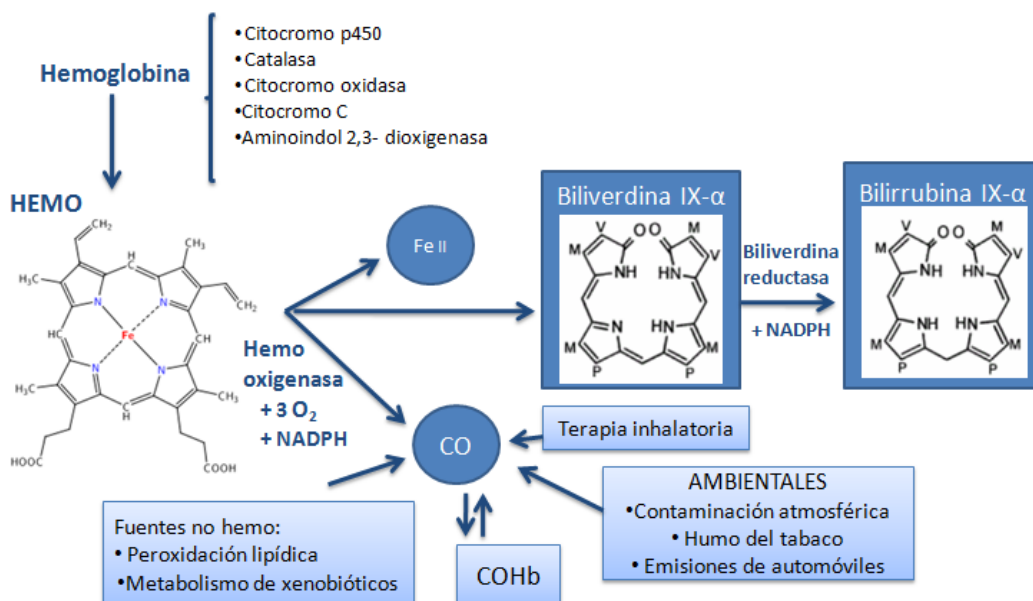
El CO tiene diversas **fuentes biológicas**, es producido de forma natural en el organismo humano principalmente como producto de la degradación del grupo **hemo**, reacción catalizada por la hemoxigenasa. La HO es la enzima que cataliza el paso limitante de la degradación del grupo hemo a biliverdina con liberación del ion ferroso (Fe^{2+}) y monóxido de carbono. La biliverdina se transforma posteriormente en bilirrubina mediante la acción de la enzima biliverdina reductasa, el hierro se recicla y el CO dada su gran afinidad por la hemoglobina, se une a ella(Figura 1).

Otras fuentes de CO aunque en menor contribución son las **no hemínicas**, como pueden ser la peroxidación lipídica o el metabolismo del citocromo P450 dependiente de xenobióticos. También se encuentran las fuentes **ambientales** ya que se trata de un contaminante atmosférico.

Recientemente, se incluye como fuente de CO el proveniente de la **terapia inhalatoria**.

El CO participa en las vías de transducción de señales y posee propiedades vasoregulatoras, antiinflamatorias y antiproliferativas.

Figura 1: Fuentes del monóxido de carbono



4.2. Antecedentes históricos

El CO en un principio atrajo poca atención como un mediador fisiológico endógeno. Sin embargo, el descubrimiento del óxido nítrico (NO), un gas similar al CO, como regulador endógeno de la función vascular, reavivó el interés biológico en el CO.

En primer lugar, se le propuso al CO una función de **neurotransmisor** en la neurotransmisión olfatoria (Verma A. y cols., 1993).

Posteriormente, se describió que el CO era un modulador endógeno de la perfusión **vascular** hepática (Suematsu M. y cols., 1994). Otros estudios demostraron los efectos **antiinflamatorios** del CO exógeno en macrófagos estimulados con lipopolisacáridos (LPS). La aplicación de baja concentración de CO (por ejemplo, 250 ppm) inhibió la producción LPS dependiente de citoquinas proinflamatorias en macrófagos (es decir, TNF- α , IL-1 β , y proteína inflamatoria de macrófagos-1 β) mientras que aumentó la expresión inducida por LPS de la citoquina antiinflamatoria IL-10 (Otterbein M. y cols., 2000).

Estudios posteriores han descrito un efecto **antiapoptótico** de CO en cultivo de células estimuladas con citoquinas (Brouard S y cols., 2000). Un efecto **antiproliferativo** de CO exógeno o derivado de HO-CO, fue descrito en cultivo de células de músculo liso vascular (Morita T. y cols., 1997).

Estos trabajos y muchos estudios posteriores han señalado los papeles fisiológicos del CO endógeno, así como efectos farmacológicos pleiotrópicos de CO aplicado, a pesar de la toxicidad conocida de este gas a concentraciones elevadas.

5. MONÓXIDO DE CARBONO

5.1. Origen del monóxido de carbono

El CO proviene fundamentalmente de una producción endógena y, según ha sido demostrado mayoritariamente del catabolismo de las proteínas del grupo hemo. Se encuentra sobre todo en la hemoglobina, aunque en menor proporción se podría encontrar en la mioglobina y los citocromos.

La actividad hemoxigenasa es una función metabólica esencial, ya que es el paso limitante en la degradación del grupo hemo.

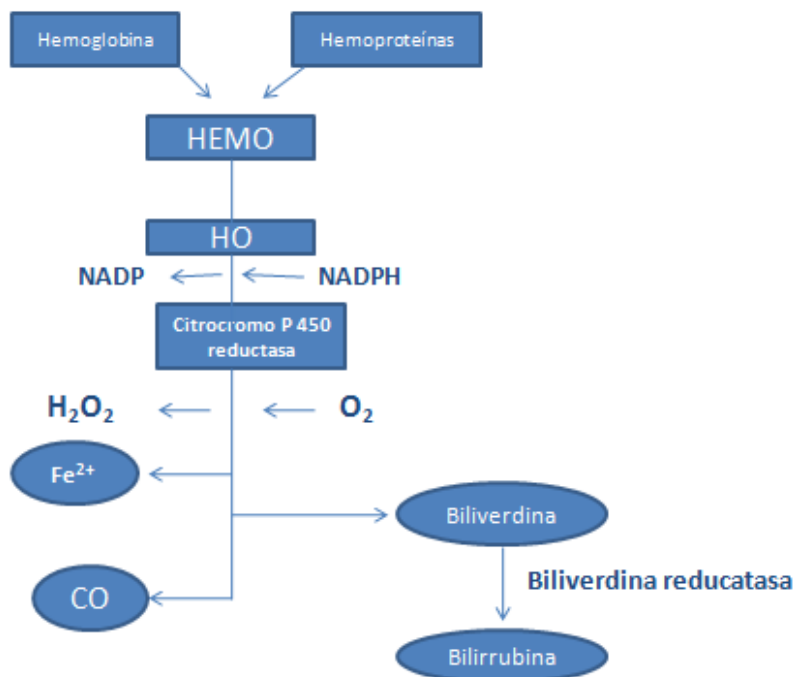
Los grupos hemo libres se oxidan espontáneamente y en el estado de oxidación de Fe^{3+} es la forma en la que se une a la HO-1. Tras esta unión se va a producir la hidroxilación estereoespecífica en el puente metilénico α , formándose el complejo α -hidroxihemo. A continuación tiene lugar la entrada mediante un mecanismo bimolecular de dos oxígenos consecutivos produciendo la escisión oxidativa del puente α -metilénico. Tras la entrada del primer oxígeno se forma el complejo α -verdohemo, y es en este paso donde se libera monóxido de carbono (CO), el cual se elimina por el sistema respiratorio. Esta producción endógena de CO es considerada prácticamente la única fuente por lo que su cuantificación proporciona un índice del grado de catabolismo del grupo hemo.

Una vez que se ha producido la escisión y abierto el tetrapirrol se pierde la afinidad por el Fe y éste se libera en estado ferroso (Fe^{2+}). Se forma la molécula biliverdina IX α (Figura2).

La reacción global catalizada por la hemoxigenasa es la siguiente: a partir de una molécula de hemina se obtiene una de biliverdina. Se requieren tres moléculas de NADPH, que posteriormente se regenera por la NADPH citocromo c reductasa y tres moléculas de O_2 . Se obtiene Fe^{2+} , CO y tres moléculas de H_2O (Wolkoff y Berk, 2007).



Figura 2: Vía de degradación del grupo hemo

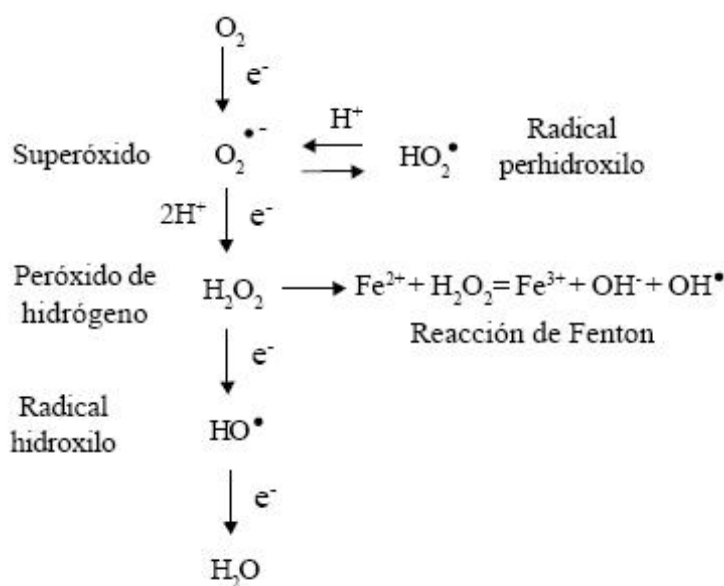


En las últimas etapas de la reacción, la biliverdina reductasa (BVR), una enzima microsomal, convierte la biliverdina en bilirrubina. La bilirrubina a diferencia de la biliverdina no es soluble en agua, es lipófila, y puede penetrar en las membranas celulares, causando toxicidad. Para ser soluble en agua y por lo tanto excretable por el tracto gastrointestinal, debe estar conjugada. Este último paso está regulado por la UDP- glucuronosil transferasa isoforma 1A1 (UGT1A1), una enzima que añade dos residuos glucurónidos a la bilirrubina para que ésta sea soluble en agua.

5.1.1. Especies reactivas de oxígeno

Las especies reactivas de oxígeno (ROS, *Reactive Oxygen Species*) son compuestos que derivan de la molécula de oxígeno (O_2) por reducción química parcial (Moderes y cols., 2015). En este grupo se incluyen al superóxido ($O_2^{\bullet -}$) que se forman al reducir el O_2 con un electrón, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), producido cuando el O_2 es reducido con dos electrones, y al radical hidroxilo (HO^{\bullet}) producido cuando es reducido con tres electrones (Melanie y Ha German, 2006). El radical hidroxilo (HO^{\bullet}) también puede formarse a partir del H_2O_2 y Fe^{2+} a través de la reacción de Fenton (Figura 3).

Figura 3: Formación de ROS y reacción de Fenton



Las ROS juegan un papel fisiológicamente importante y, al mismo tiempo, pueden ejercer efectos tóxicos. Todas las ROS son producidas como consecuencia del metabolismo y son esenciales para la producción de energía, la síntesis de compuestos biológicamente esenciales y la fagocitosis, un proceso crítico para el sistema inmunológico. Éstas también juegan un papel vital en la transducción de señales, la cual es importante para la comunicación y función de las células (Papas, 1999).

Por otro lado, a altas concentraciones pueden ejercer efectos tóxicos como por ejemplo, la reacción de radicales con proteínas puede llevar a la oxidación de cadenas laterales reactivas de aminoácidos, al entrecruzamiento de proteínas, a la desnaturalización, e incluso a dañar a las proteínas cercanas.

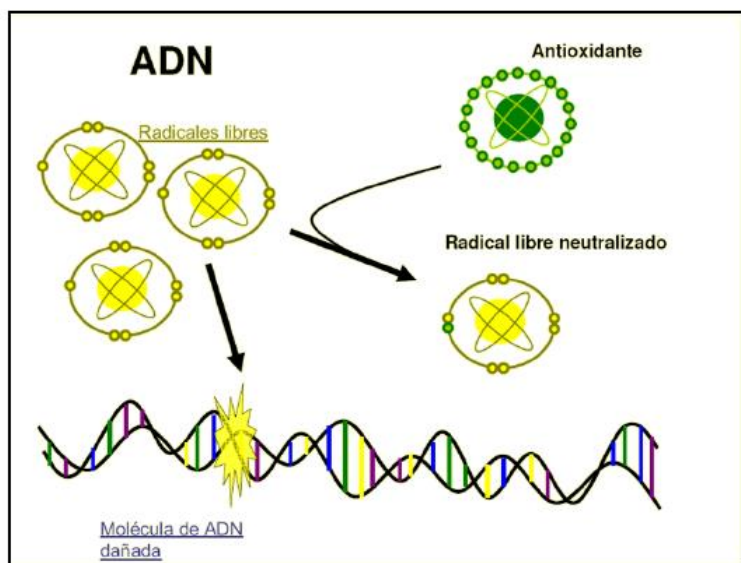
La oxidación de ADN conlleva a la ruptura de cadenas y a la liberación de bases oxidadas. Además, pueden reaccionar con los ácidos grasos insaturados produciendo una serie de reacciones en cadena conocidas como peroxidación lipídica, que afecta a las funciones de las membranas, puede causar daños a las células musculares aumentando la fluidez de la membrana, alterando las actividades enzimáticas, produciendo incapacidad de mantener los gradientes iónicos y provocando inflamación celular e inflamación del tejido.

En los últimos veinte años se ha incrementado la evidencia que demuestra que los ROS pueden ser los causantes de distintas patologías, incluyendo las enfermedades coronarias, el cáncer, el envejecimiento, la hipertensión y algunas enfermedades neurodegenerativas como Parkinson o Alzheimer.

El daño oxidativo de ROS se previene y/o reduce mediante los antioxidantes (Helaine y Hagerman, 2006), que se definen como cualquier sustancia que, cuando está presente a bajas concentraciones en comparación a las de un sustrato oxidable (por ejemplo, lípidos, proteínas y ADN), retrasa o previene significativamente la oxidación de dichos sustratos (Papas, 1999).

Los antioxidantes pueden ser compuestos endógenos producidos por el organismo como parte de su defensa de las ROS o compuestos exógenos adquiridos de la dieta (Helaine y Hagerman, 2006) (Figura 4).

Figura 4: Eliminación de ROS por acción de antioxidantes.



(Figura tomada de Helaine y Hagerman, 2006)

5.1.2. Capacidad oxidante del grupo hemo

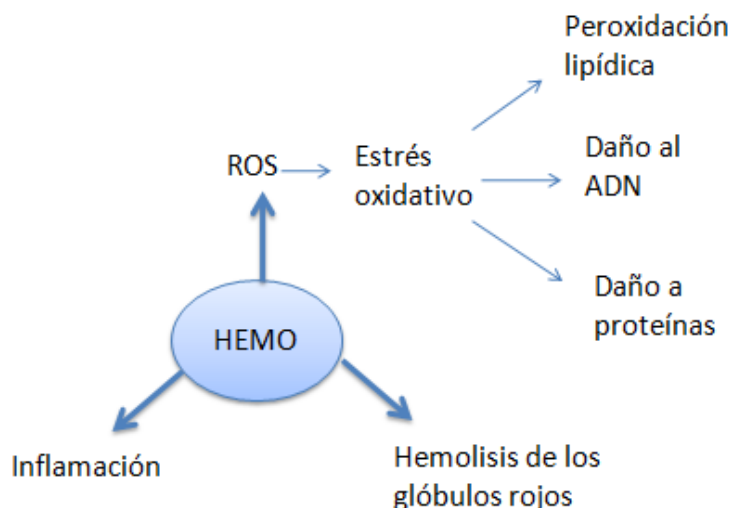
El grupo hemo es un complejo de hierro y protoporfirina, esencial para la vida de los organismos aerobios. Es el grupo prostético de numerosas hemoproteínas que participan en funciones tan importantes como el almacenamiento y el transporte de oxígeno (hemoglobina y mioglobina), el transporte de electrones, la generación de energía (NADPH oxidasa, guanilato ciclasa y el citocromo P-450) y la eliminación de peróxidos (catalasa y peroxidasa). Además es indispensable para otros sistemas enzimáticos tales como la cicloxigenasa y óxido nítrico sintasa (Orozco-Ibarra y Pedraza-Chaverri, 2010).

El grupo hemo libre es liposoluble y altamente tóxico intercalándose en las membranas biológicas y produciendo daño celular. Bajo condiciones de homeostasis, la reactividad del grupo hemo se encuentra bajo control, ya que se encuentra insertado dentro de los "bolsillos hemo" de las hemoproteínas. Sin embargo, bajo condiciones patológicas como por ejemplo una hemólisis, el grupo hemo no proteico (libre) es altamente tóxico (Kumar y Bandyopadhyay, 2005).

Si hay un fallo en la vía degradativa del grupo hemo, éste no se degrada y se acumula y, tiene efectos tóxicos. Puede generar ROS a través de la reacción de Fenton y producir daño oxidativo a lípidos, DNA y proteínas. Produce inflamación aumentando el reclutamiento de

leucocitos y la actividad de los neutrófilos y, sobre los hematíes provoca la hemólisis (Figura 5).

Figura 5: Toxicidad del grupo hemo libre



5.2. Mecanismo de acción del monóxido de carbono

Investigaciones recientes han revelado que bajas concentraciones de CO pueden influir en las **vías de transducción de señales** intracelulares. El CO puede ejercer efectos fisiológicos como la vasoregulación, así como modular la inflamación, la apoptosis y la proliferación celular (Figura 6).

El CO puede modular la activación de las **proteínas quinasas activadas por mitógenos** (MAPK), que son mediadores importantes de respuestas inflamatorias y estrés celular (Otterbein LE y cols., 2003).

Puede ejercer **efectos vasoreguladores** ya que actúa como agonista de la guanilato ciclasa soluble (GCs) por lo que aumenta la producción de guanósín 3',5- monofosfato (GMPc). Sin embargo el efecto agonista en GCs es mucho menos potente que el del NO (Furchgott RF y cols., 1991).

CO también puede regular la función vascular a través de otros mecanismos, incluyendo la **inhibición del citocromo P450**, el cual produce moléculas vasoconstrictoras como los tromboxanos, por tanto, se inhibe una diana de moléculas vasoconstrictoras y, la

activación de canales de potasio dependientes de calcio K_{Ca} en las células vasculares musculares lisas (Wang R y cols., 1998).

Los **efectos antiinflamatorios** requieren la activación de la vía p38 MAPK. El CO puede disminuir la producción de citoquinas proinflamatorias (por ejemplo, IL-1 β , IL-6, TNF- α , y Mip1 α / β) y regular al alza las citoquinas antiinflamatorias (por ejemplo, IL-10) (Tabla 1).

El CO puede también estimular la producción de ROS mitocondrial, los cuales pueden inhibir el factor de transcripción proinflamatorio Egr-1 y, promover la autofagia.

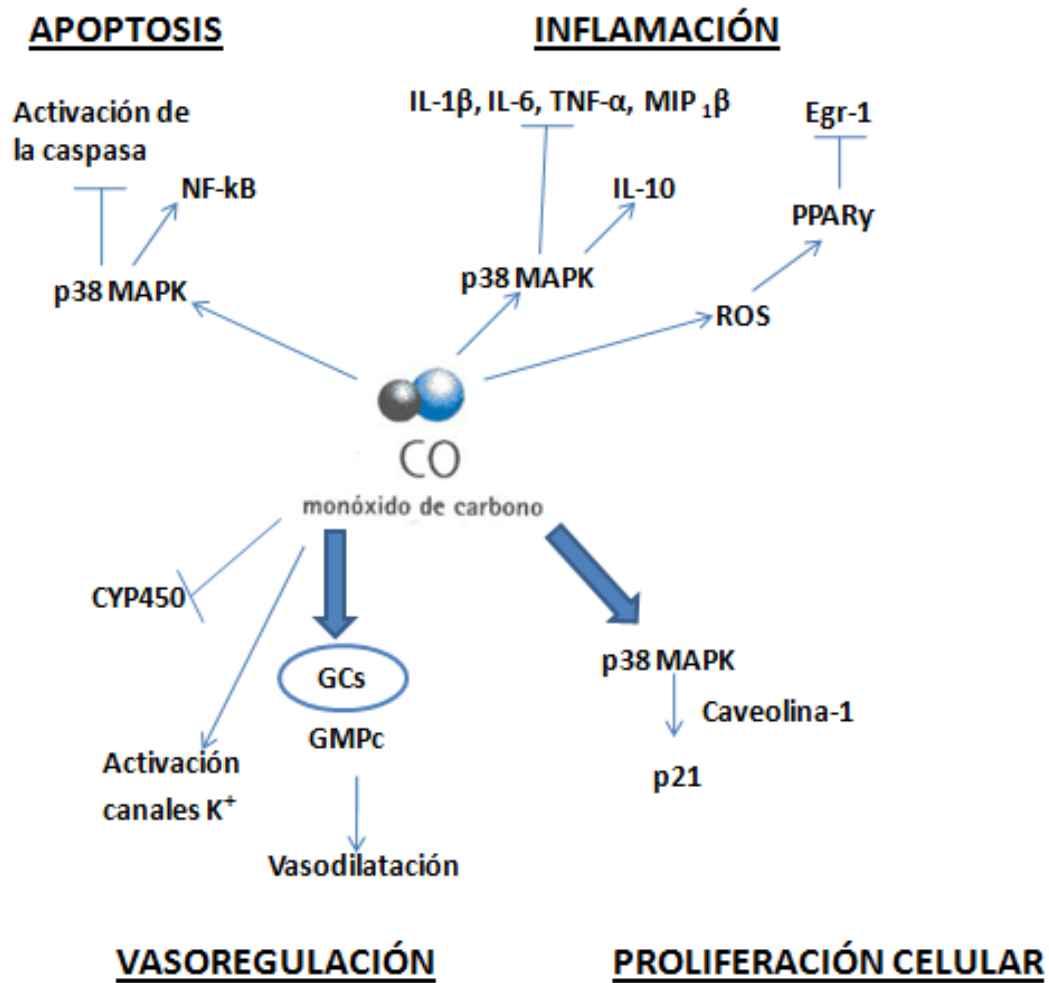
Tabla 1: Acciones producidas por las citoquinas

Citoquina	Acción	Acciones más importantes
IL-1 β	Proinflamatoria	Aumenta el flujo sanguíneo local y la expresión de moléculas de adhesión, fiebre, producción de otros mediadores solubles.
IL-6	Proinflamatoria	Promueve la diferenciación de monocitos, aumenta el número de plaquetas circulantes y de proteínas reactantes de fase aguda.
TNF- α	Proinflamatoria	Aumenta la expresión de moléculas de adhesión, expresión de otros mediadores solubles, fiebre, alteraciones metabólicas.
MIP $_{1\beta}$	Proinflamatoria	Quimiotaxis de monocitos
IL-10	Antiinflamatoria	Disminuye la producción de IL-1 y de TNF- α .

CO ha demostrado regular las vías de señalización de **apoptosis** en las células cultivadas. Cuando se aplica a baja concentración, inhibe la muerte celular causada por agentes proapoptóticos (por ejemplo, factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) en las células endoteliales y la modula la señalización del factor NF- κ B a través de la vía p38 MAPK (Brouard S y cols., 2002).

En cuanto a la regulación de la **proliferación celular** la acción del CO está relacionada con la modulación de la NADPH oxidasa y/o la regulación de la proteína caveolina-1 asociada a la balsa lipídica.

Figura 6: Mecanismo de acción del CO



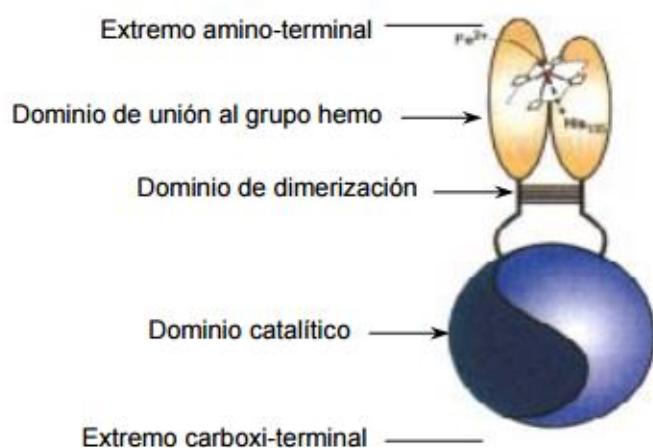
5.2.1. Guanilato ciclasa

La forma soluble de las enzimas **guanilato ciclasa (GCs)** está expresada en el citoplasma de prácticamente todas las células de los mamíferos y participa en un gran número de procesos fisiológicos, tales como la inhibición de la agregación plaquetaria, vasodilatación, transmisión de señales neuronales e inmunomodulación (Collier&Vallance, 1989).

La guanilato ciclasa soluble (GCs) es una hemoproteína citosólica formada por dos subunidades, α (82 Kda) y β (70 Kda). La forma activa y mayoritaria suele ser un heterodímero, aunque las formas heterodiméricas coexisten en equilibrio con los homodímeros, inactivos, quizá como mecanismo de regulación fisiológica (Zabel U y cols., 1999).

La homología entre ambas subunidades es del 32%. La región amino terminal es la que menos similitud guarda, con un 20%. Es la región α hélice central, con un 70%, y la región catalítica con un 40% (Figura 7).

Figura 7: Estructura de la GCs



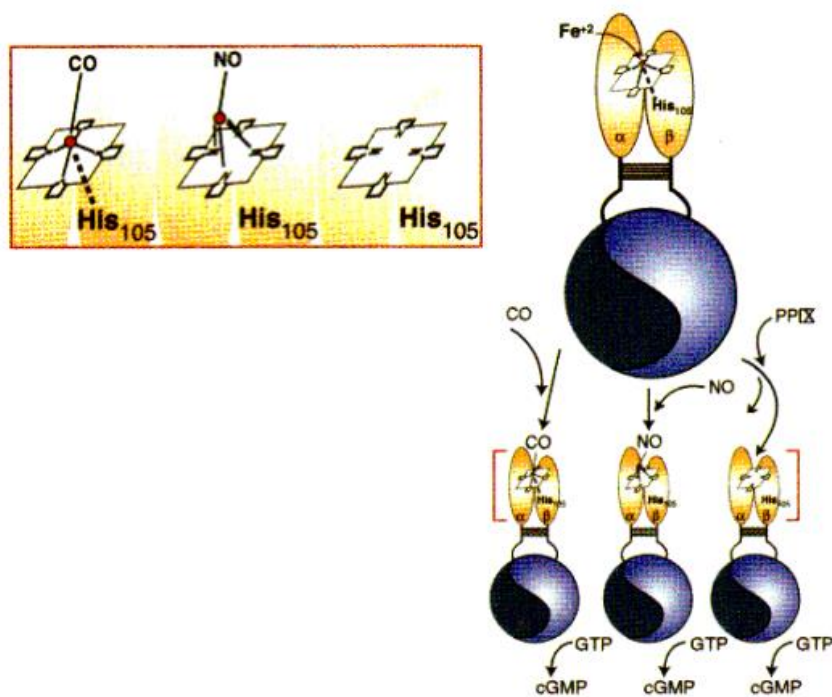
(Figura tomada de F. Rivero-Vilches, 2001)

Unido a la histidina 105 de la subunidad β 1 se encuentra el grupo hemo, formado por una protoporfirina IX a la que está unida un ion ferroso, y a la que se une el óxido nítrico (NO). También al grupo hemo se puede unir otra molécula gaseosa, el CO, que activa a la GCs. La formación del complejo Fe-NO (o Fe-CO) provoca un cambio conformacional en las estructuras de las subunidades, que produce el efecto catalítico. El mecanismo bioquímico no se conoce completamente: esta ciclasa pertenecería a un tercer grupo de hemoproteínas diferentes a las de transporte de oxígeno o de electrones, que se activaría por la unión de NO o CO y no por la unión de O_2 (F. Rivero-Vilches y cols., 2001) (Figura 8).

El NO es un radical libre descubierto como **mediador intracelular** en 1980, de semivida muy corta y muy lipófilo. Es sintetizado por las óxido nítrico sintasas (NOS): NOS endotelial (eNOS), NOS neuronal (nNOS) y NOS inducible (iNOS), a partir de L-arginina o análogos (Mayer B y cols., 1997). El receptor natural para NO es la GCs, pero también puede

tener otros mecanismos de acción como mediador en otras vías de transmisión de señales que por ejemplo impliquen a citocromos, o puede tener un efecto directo mediante nitrosilación sobre algunas proteínas, modificándose su función natural.

Figura 8: Efecto catalítico producido por la unión de NO o CO al grupo hemo



(Figura tomada de F. Rivero-Vilches, 2001)

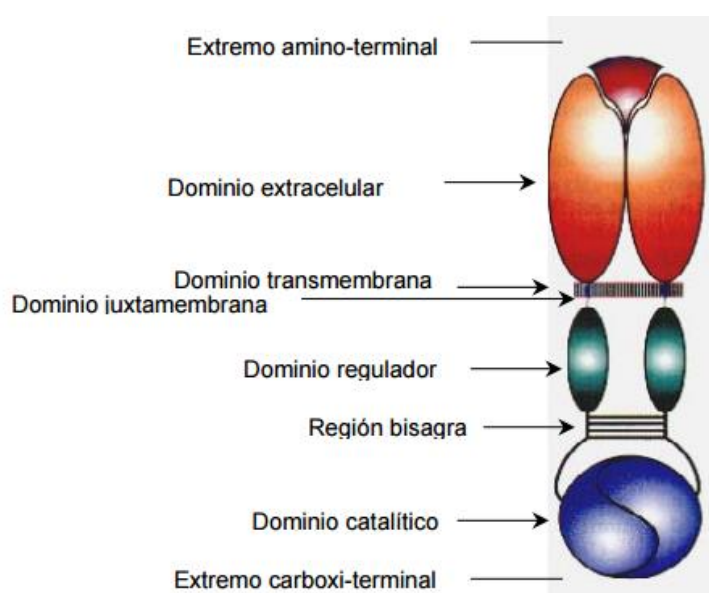
La **vía de señalización NO-GCs-GMPc** media numerosos procesos fisiológicos: relajación músculo liso vascular y no vascular, neurotransmisión periférica y central, activación plaquetaria y fototransducción (Moncada S y cols., 1991), por lo que la GCs es una atractiva diana terapéutica en situaciones patológicas como la angina, el infarto de miocardio, hipoxia, glaucoma, trombosis o shock séptico donde la activación de esta vía está fuertemente implicada.

La **guanilato ciclasa particulada (GCp)** es una enzima de membrana homodimérica. Está anclada a la membrana celular, presentando un dominio amino terminal extracelular que actúa como receptor, una región transmembrana corta que se ha propuesto como región reguladora y, una región carboxilo terminal intracelular con función ciclasa que

formará GMPc a partir de GTP en respuesta a los ligandos que se unan al dominio receptor (Wedel BJ y cols., 1997) (Figura 9). En la región reguladora existe una zona de homología con proteínas del tipo de las tirosinas-kinasas, uniéndose a este nivel molecular de ATP y otras proteínas poco conocidas, existiendo probablemente una regulación calcio dependiente a ese nivel (Koch KW y cols., 1998).

En mamíferos se han identificado siete isoformas distintas de la GCp, ampliamente distribuidas en el organismo (GCp-A a la GCp-G). Las tres primeras tienen ligandos conocidos, son los péptidos natriuréticos (PN), son los agonistas naturales de la GCp A, B y C.

Figura 9: Estructura de la GCp



(Figura tomada de F. Rivero-Vilches, 2001)

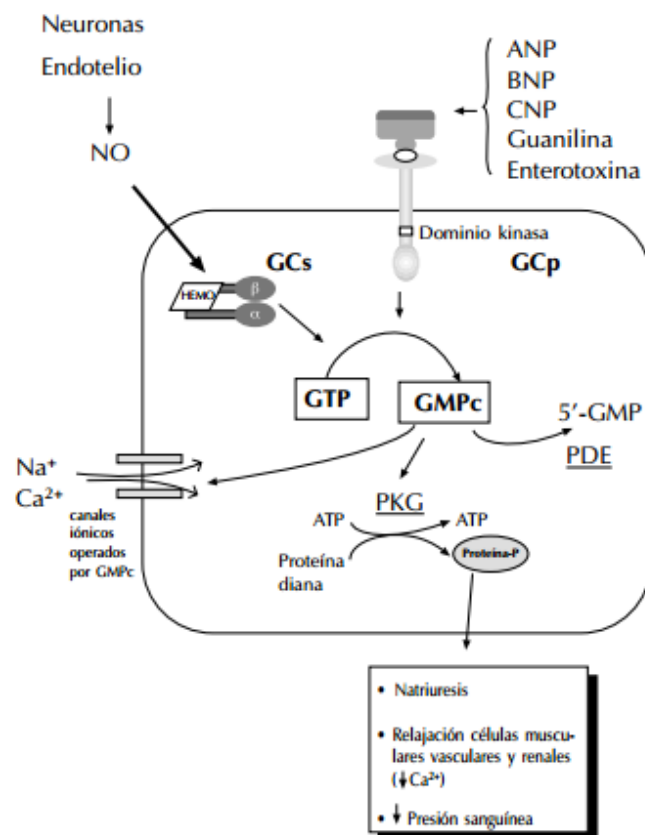
La activación de las distintas guanilato ciclasas produce un incremento de los niveles intracelulares de **guanosín monofosfato cíclico** (GMPc), el cual produce efectos tan dispares como relajación celular, inhibición de la proliferación y transmisión de señales luminosas. La vía de transmisión de la señal que el GMPc emplea dentro de la célula para producir estos efectos no está muy bien caracterizada. Dentro de los efectores más conocidos se encuentran las **proteínas quinasas dependientes de GMPc** (PKG). Se conocen dos PKG, de las que hay diversas isoformas. PKG-I, que se expresa fundamentalmente en las células de estirpe mesenquimal (músculo liso y células mesangiales), plaquetas, neuronas, células endoteliales y miocitos, y PKG-II que se expresa en las células yuxtaglomerulares y túbulos proximales del riñón, en mucosa intestinal, cerebro y huesos. La PKG-I interviene de forma decisiva en el proceso de relajación celular: por una parte fosforila al receptor del inositol

trifosfato (IP3R) que produce una inhibición de la liberación de Ca^{2+} o un incremento en su compartimentalización, reduciendo la concentración de Ca^{2+} citosólico libre y por otra participa en la activación de la fosfatasa de la cadena ligera de la miosina. Además, los canales iónicos dependientes de GMPc se activan, contribuyendo aún más a la disminución del Ca^{2+} intracelular (además de otros canales) produciendo la relajación celular.

Los mecanismos moleculares que median la activación de la PKG-II no son bien conocidos, aunque se cree que los efectos descritos anteriormente sobre la fisiología renal son mediados por esta isoforma.

Los niveles de GMPc se regulan a nivel intracelular por la actuación de las fosfodiesterasas, que lo degradan rápidamente. De las siete familias conocidas de fosfodiesterasas, tres son reguladas alostéricamente por GMPc y una es inhibida por la unión de GMPc en su centro catalítico. Existe una regulación cruzada entre los niveles de AMPc y GMPc, siendo el AMPc otro de los intermediarios moleculares en las vías de relajación celular (Saura M y cols., 2001) (Figura 10).

Figura 10: Síntesis y receptores de GMPc



(Figura tomada de F. Rivero-Vilches, 2001)

6. VALOR TERAPÉUTICO

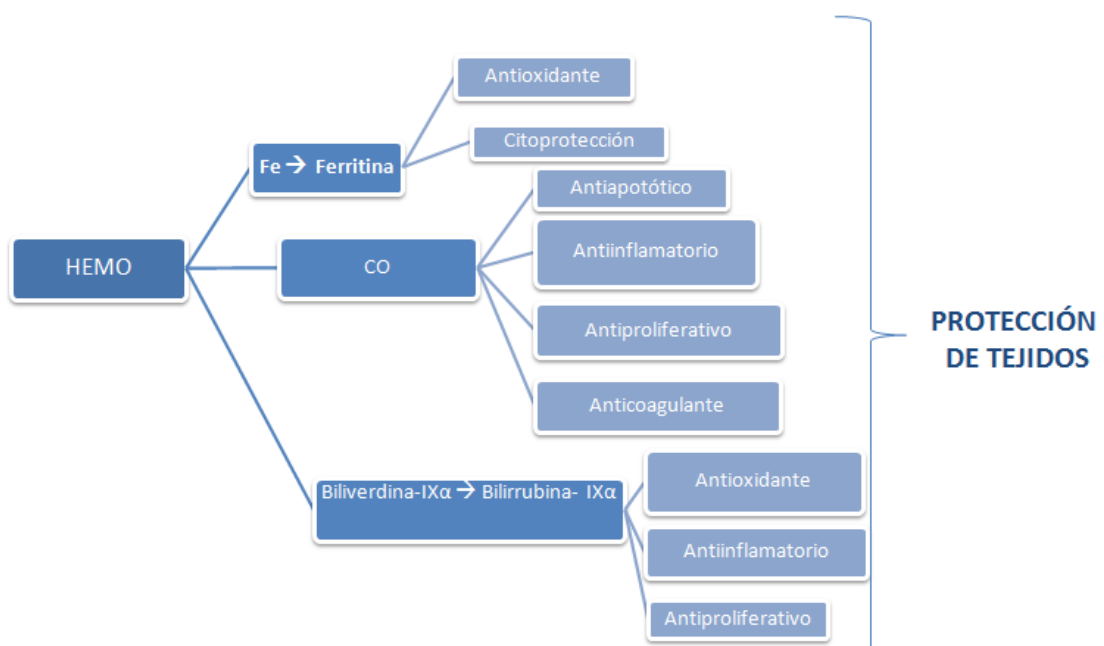
La hemoxigenasa-1 (HO-1) es una enzima inducible de gran interés biológico y terapéutico. En mamíferos se conocen dos isoformas de esta enzima: HO-1 que es inducible y HO-2 que es constitutiva.

La HO-1 es una proteína de 32KDa miembro de la súperfamilia de proteínas del estrés “stress proteína superfamily (HSP32)” es una proteína inducible, abundante en hígado, bazo y médula ósea, por otra parte, la HO-2 es una proteína de 36kDa que no responde a los estímulos que inducen HO-1, es constitutiva y su máxima expresión se encuentra en cerebro, testículos y células endoteliales.

Mientras que la función principal de HO-1 es claramente la de protección frente al estrés oxidativo, la enzima HO-2 juega un papel importante en la regulación del sistema de detección de O_2 y en modelos que generan estrés hipóxico (Muñoz-Sánchez y Chávez-Cárdenas, 2014).

La HO realiza un importante papel de citoprotección relacionado con la degradación del grupo hemo y con la formación de los productos finales: Fe^{2+} , biliverdina y CO. Estos productos contribuyen a los mecanismos citoprotectores y poseen funciones importantes (Figura 11).

Figura 11: Funciones de los diferentes productos de la degradación del grupo hemo



6.1. CO de producción endógena como marcador de la enfermedad

En general, los niveles de CO exhalado se pueden correlacionar bien con el estado de salud. Aunque todavía limitados en número, los ensayos clínicos informan que los pacientes críticamente enfermos producen mayores cantidades de CO que los controles sanos (Meyer J y cols., 1998).

Los niveles de CO se correlacionan también con la bilirrubina sérica, el otro catabolito de la degradación del hemo por la HO, y con la creatinina sérica, de acuerdo con la **insuficiencia renal grave** desarrollado por estos pacientes (Scharte M y cols., 2006).

En base a la evidencia acumulada hasta el momento, se especula que la medición de los niveles de CO en las primeras etapas de estados patológicos podría ser crucial en la comprensión y la predicción de los resultados. También puede haber enfermedades específicas en las que mediciones de los niveles de CO proporcionan importantes conocimientos sobre la evolución del estado de la enfermedad.

El uso de CO como un marcador de la inflamación puede ser apropiado en varias condiciones inflamatorias del tracto respiratorio y otros sistemas, ya que los niveles de CO exhalado reflejan la gravedad de la **inflamación pulmonar** en pacientes asmáticos, los niveles nasales de CO son elevados en pacientes con **rinitis alérgica** estacional, y los niveles aumentados de CO medidos en el lumen del colon humano en pacientes en la fase activa de la **colitis ulcerosa**. CO exhalado es también más alto de lo normal en los recién nacidos prematuros que desarrollan **displasia broncopulmonar** y en pacientes con **fibrosis quística** (Matterlini R y cols., 2008).

La concentración de carboxihemoglobina se incrementa en **pacientes cirróticos**, pero no se encontró correlación con la gravedad de la enfermedad (Tran TT y cols., 2007). Por el contrario, elevado valor de COHb fue encontrado en pacientes en estado crítico, con el argumento de que podría haber un intervalo terapéutico óptimo para la inducción de HO-1 (Melley DD y cols., 2007).

6.2. Toxicología del monóxido de carbono

El CO es un contaminante atmosférico común. El CO ambiental surge principalmente como producto de la oxidación incompleta de combustibles fósiles (por ejemplo, la madera, el carbón, queroseno y gas natural), y está presente en altas concentraciones en las emisiones de los automóviles y el humo del tabaco (Von Burg R y cols., 1999).

En el interior los niveles de CO se encuentran en un intervalo de entre **0,5 - 5 partes por millón**, pudiendo llegar a ser valores mucho más altos por una ventilación ineficiente o la presencia del humo del tabaco.

El CO inhalado difunde rápidamente a través de membranas alveolares y capilares, con la mayoría formando un complejo de unión fuerte con el oxígeno de la hemoglobina, para formar **carboxihemoglobina (COHb)**, con una afinidad de unión para la hemoglobina de aproximadamente 200 a 250 veces la de oxígeno. La ocupación parcial de CO en los sitios de unión de la hemoglobina inhibe la liberación de O₂ de los restantes grupos hemo. Estos efectos de CO disminuyen la capacidad de la sangre para entregar O₂, lo que lleva a la hipoxia del tejido (Gorman D. y cols., 2003).

La formación de COHb es reversible por la eliminación de la fuente de CO mediante la inspiración de O₂. Por lo tanto, la terapia de oxígeno es un antídoto para la intoxicación por CO común.

El porcentaje de COHb en la sangre sigue siendo en la actualidad el mejor marcador predictivo para extrapolar la cantidad de CO presente en el cuerpo. Sobre esta base, los datos notificados hasta el momento indican que una cantidad de **CO-Hb del 15-20%** es, en la mayoría de los casos, no perjudicial y puede ser considerado como el "umbral biológico" para la tolerancia de CO en los seres humanos, más allá del cual es probable que se produzca una lesión grave mediada por CO. La mayoría de los estudios realizados hasta ahora sugieren que el CO producido endógenamente y, el CO exógeno inhalado, en dosis a las que no se comprometa gravemente la capacidad de transportar oxígeno de la hemoglobina (COHb < 20%), provoca resultados de protección y beneficiosos, que cubre una amplia gama de respuestas contra lesión múltiple de órganos, inflamación, apoptosis, proliferación celular, la vasoconstricción y tanto sistémica y pulmonar hipertensión (Ryter SW y cols., 2006).

Los niveles de COHb de más del 20% son típicamente asociados con síntomas de toxicidad clínica. Signos agudos de envenenamiento por CO incluyen mareos, neurotoxicidad,

deterioro cognitivo, discapacidad visual y pérdida del conocimiento, la muerte se produce en el rango de 50% a 80% COHb (tabla 2). Estudios recientes también han identificado la exposición crónica a elevada CO ambiente como un factor de riesgo cardiovascular (Samoli E. y cols., 2007).

Tabla 2: Manifestaciones clínicas en relación a la intoxicación con CO

CARBOXIHEMOGLOBINA (%)	SIGNOS/SÍNTOMAS
<10%	Asintomático
10-20%	Cefaleas, vasodilatación
20-30%	Cefaleas, disnea, angor
30-40%	Cefaleas, náuseas, vómitos, alteración de la visión, debilidad
40-50%	Síncope, taquicardia, taquipnea
50-60%	Coma, respiración irregular, convulsiones
>60%	Paro cardiorespiratorio, muerte

6.3. CO como terapia inhalatoria

Dado que el CO es uno de los tres productos celulares de HO-1 y un potencial mediador de la regulación de los efectos de HO-1, la posibilidad de que el CO podría sustituir funcionalmente HO-1 ha sido explorada (Otterbein LE. Y cols, 2000).

Diversos estudios han demostrado el beneficio terapéutico de la inhalación de CO en una serie de modelos de animales en estudios preclínicos de pulmón y enfermedad vascular.

Por otra parte, los estudios clínicos recientes muestran una correlación positiva entre las tasas de supervivencia y los niveles de CO producidos de forma endógena en pacientes en estado crítico (Nora Jhan y cols, 2015).

6.3.1. Endotoxemia y sepsis

Los efectos del monóxido de carbono se han demostrado en un modelo de ratón en exposición a endotoxinas (Otterbein LE Y cols., 2000).

En el caso de lipopolisacáridos (LPS) administrados por vía sistémica, las lesiones pulmonares asociadas imitan al síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA). La administración intranasal e intratraqueal de LPS crean una lesión directa del tejido pulmonar, apoptosis y necrosis, como se vería en la neumonía infecciosa (Matute-Bello G. y cols., 2008).

El precondicionamiento con CO reduce la producción de TNF- α , interleucina (IL)-1 β , IL-6 y, produce el aumento de la citoquina antiinflamatoria IL-10, así como la reducción de la lesión de órganos y una supervivencia prolongada tras la exposición a LPS.

6.3.2. Lesión pulmonar aguda

El daño pulmonar resultante de la exposición a hiperoxia se produce predominantemente en el endotelio respiratorio (revestimiento de los vasos) y el epitelio (revestimiento de las vías respiratorias) (Lee PJ. Y cols., 1996).

La hiperoxia y el resultante aumento de HO-1 están asociados con la activación de MAPK en el tejido pulmonar. Las ratas y los ratones expuestos a la hiperoxia (> 95% de oxígeno) desarrollan inflamación pulmonar que se caracteriza por la afluencia de neutrófilos, edema pulmonar, derrame pleural, y el aumento de marcadores de apoptosis de células de pulmón.

La administración de CO a una concentración de 250 ppm en el entorno de hiperoxia prolongó la supervivencia de las ratas y los ratones sometidos a una dosis letal de la hiperoxia. Esta administración de CO también reduce los marcadores histológicos de lesión pulmonar, tales como la infiltración de neutrófilos, la deposición de fibrina, proteinosis alveolar, edema pulmonar y, el índice de apoptosis total (Otterbein LE. Y cols., 2003).

También se observó en estos ratones una disminución de la expresión de las citoquinas proinflamatorias, incluyendo TNF- α , IL-1 β , y IL-6 (Otterbein LE. Y cols., 1999).

6.3.3. Lesión pulmonar inducida por ventilación

La ventilación mecánica, incluso en el caso de normoxia (21% de oxígeno), puede inducir a la denominada lesión pulmonar inducida por el respirador.

Aunque la lesión pulmonar inducida por ventilación da como resultado aumento en parámetros como el recuento de neutrófilos, recuento total de células, proteína de choque térmico..., el uso de CO resultó en una disminución hacia los niveles normales de proteína total del fluido broncoalveolar, del recuento de células y de neutrófilos.

Hasta la fecha, estos efectos del CO se asociaron con la activación de la caveolina-1, la activación de PPAR γ , la inhibición de Egr-1 de señalización (Hoetzel A. y cols., 2008).

6.3.4. Lesión por isquemia-reperfusión y trasplante de órganos

Las especies reactivas de oxígeno citotóxicas producidas durante la isquemia-reperfusión (IR) afectan al pulmón promoviendo el reclutamiento de leucocitos inflamatorios y, causan lesión pulmonar y muerte celular secundaria a ambas, necrosis y apoptosis.

El CO y la HO-1 han demostrado efectos protectores en tejidos en modelos de ratones por lesión en órgano por isquemia-reperfusión.

El CO inhalado compensa la deficiencia de HO-1 en *hmx-1*^{-/-} de ratones y, mejora de la supervivencia durante la isquemia-reperfusión pulmonar (I / R). La protección proporcionada por CO involucra la activación de la fibrinólisis en un mecanismo dependiente de la guanilato ciclasa (GC). El CO inhibe la deposición de fibrina y mejora la circulación en los pulmones isquémicos mediante la inhibición del factor de transcripción proinflamatorio (Egr-1). Además estudios adicionales en el modelo pulmonar I / R demuestran los efectos protectores de CO que implican regulación de la inhibición de las vías de la apoptosis.

En los modelos de trasplante de órganos, la lesión I/R posterior al trasplante puede jugar un papel importante en el fracaso del injerto. En este sentido, el CO ha sido muy estudiado como terapia antiinflamatoria experimental en trasplantes de órganos ya que ha demostrado un reducir el rechazo por lesión isquémica cuando se aplica a baja concentración. La aplicación de CO ha demostrado conferir protección durante el trasplante de varios órganos (Tabla 3).

Tabla 3: Acción del CO sobre diferentes órganos y especies

ÓRGANO DIANA	ESPECIE	ACCIÓN
TEJIDO VASCULAR	Rata	Disminución de la inflamación.
CORAZÓN	Rata, ratón	Inhibición de la acción plaquetaria, trombosis, apoptosis e infarto.
RIÑÓN	Rata /Cerdo	Mejora la función renal, la supervivencia.
HÍGADO	Rata	Reduce las lesiones por I/R.
PULMÓN	Rata /Cerdo	Mejora la tolerancia del injerto y la inhibición de la inflamación.
INTESTINO DELGADO	Rata	Reduce las lesiones por I/R.
PÁNCREAS	Ratones, ratas	Mejora la supervivencia del injerto y la función de los islotes.

La inhibición de la apoptosis y de la inflamación pueden representar los principales mecanismos por los cuales el CO protege los órganos de la disfunción e insuficiencia en los trasplantes, aunque la mejora de la circulación sanguínea, así como los efectos antiproliferativos, también pueden contribuir.

6.3.5. Hipertensión pulmonar

La exposición a CO (1hora/día) revierte la hipertensión arterial pulmonar establecida y la hipertrofia ventricular derecha, así como las presiones arteriales y la morfología vascular pulmonar.

El efecto protector del CO es dependiente de las células endoteliales, y se asocia con un aumento de la apoptosis y la disminución de la proliferación celular de las células musculares lisas vasculares.

Estudios adicionales han demostrado que el CO redujo la resistencia de la arteria pulmonar e inhibió la vasoconstricción hipóxica, a través de la activación de GCs/GMPc, y la hiperpolarización de los canales de potasio.

6.3.6. Fibrosis pulmonar idiopática

La fibrosis pulmonar idiopática (IPF) es una enfermedad terminal que se caracteriza por la cicatrización o engrosamiento de los tejidos pulmonares asociadas a la hiperproliferación de fibroblastos y la remodelación de la matriz extracelular, sin etiología conocida o tratamiento eficaz. Afecta principalmente al tracto respiratorio inferior lo que da lugar a una deficiencia del intercambio de gases alveolares.

El efecto protector de CO en este modelo se asoció con un efecto antiproliferativo del CO sobre la proliferación de fibroblastos asociado con el aumento de la expresión de p21^{Waf1/Cip1} y la inhibición de la expresión de ciclinas A/ D.

6.3.7. Diabetes y síndrome metabólico

La gastroparesia diabética es una condición en la que se retrasa el tiempo de vaciado gástrico, que se asocia con un aumento del estrés oxidativo y lesión a las células intersticiales de Cajal en el estómago.

A un modelo de ratones diabéticos no obesos con fenotipo de retardo gástrico se le sometió a una terapia de CO inhalado (100 ppm, 8h/día durante 16 días), lo que redujo los marcadores de estrés oxidativo en suero, restaurado la expresión de Kit, un marcador de las células intersticiales de Cajal y, mejorado el retraso en el vaciado gástrico (Choi KM y cols., 2008).

En modelos de enfermedad metabólica, la inhalación de CO reduce la esteatosis hepática en ratones sometidos a 30% de fructosa o metionina deficientes y las dietas de colina deficiente.

6.3.8. Preeclampsia

La preeclampsia es una condición asociada con el embarazo que implica placentación anormal, hipertensión y proteinuria. A pesar de que en la condición se cree que está implicado un aumento del estrés oxidativo en la circulación placentaria, las mujeres que fuman durante el embarazo tienen un riesgo significativamente menor de desarrollar esta afección (Bainbridge SA. y cols., 2005). Estudios anteriores han sugerido que la deficiencia en el sistema de HO-1 / CO puede estar asociada con la disfunción de la placenta y la susceptibilidad a preeclampsia (Zhang X y cols., 2000).

Consistentemente, se encontró que los niveles de COHb en sangre eran significativamente menor en mujeres con preeclampsia en comparación con embarazos normales (Yusuf K y cols., 2012). La exposición materna a un ambiente de CO moderado se asoció con una disminución del riesgo de preeclampsia (Motterlini R y cols., 2005).

Puntos de vista actuales implican al sistema de HO-1 / CO como un factor procirculatorio esencial en la placenta, aunque se necesitan más estudios.

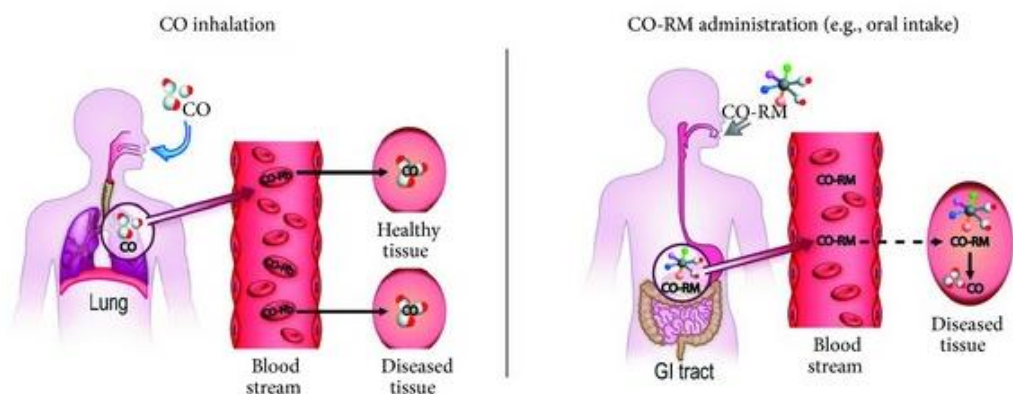
6.4. Aplicación farmacología del uso de CO

Un nuevo enfoque terapéutico del CO como alternativa a la terapia inhalatoria son los compuestos químicos donadores de CO o también denominados CORMs. Se han desarrollado en la última década como agentes terapéuticos experimentales.

La alta toxicidad de inhalación del CO requiere estrategias sofisticadas para administrar una cantidad definida de CO como agente terapéutico en un lugar y momento determinado. Por lo tanto, los portadores de CO que cumplen con requisitos específicos, tales como la solubilidad en medios acuosos, baja toxicidad de estas "pequeñas" moléculas liberadoras de CO (CORMs) y sus productos de degradación, así como la liberación de CO, son claramente necesarios.

Una ventaja de los CORMs es que entregan CO a los tejidos con una reducida acumulación de COHb en comparación con la inhalación de CO. Como los CORMs pueden entregar pequeñas cantidades de CO de una manera controlada, pueden representar una terapia experimental para la sepsis y los trastornos inflamatorios (figura 12).

Figura 12: Comparación de la aplicación farmacológica del CO y la terapia inhalada



CO inhalado		Administración de CO-RM (ej: ingesta oral)
<ul style="list-style-type: none"> •Exigente •No •Sí •Hospital •Alta 	<ul style="list-style-type: none"> •Control de dosis •Especificidad tisular •Equipos específicos •Lugar de administración •Carga de CO 	<ul style="list-style-type: none"> •No importante •Controlable •No •Ambulatorio •Baja

Tres pasos consecuentes llevaron a determinar la viabilidad de la explotación de la liberación de moléculas de CO (CORMs) con fines terapéuticos. En primer lugar, dos carbonilos de metales de transición disponibles, denominados CORM-1 (Mn_2CO_{10}) y CORM-2 [$Ru(CO)_3Cl_2$ -dímero], ambos solubles en lípidos y, demostraron la liberación del CO en condiciones fisiológicas apropiadas y promueven la vasodilatación e hipotensión in vivo (Motterlini R y cols., 2002).

En segundo lugar, el primer ejemplo prototipo de una transición de carbonilo de metal soluble en agua (CORM-3), estable en soluciones acuosas pero libera rápidamente CO ($t_{1/2} < 1$ min) una vez en contacto con los fluidos biológicos y componentes celulares (Clark JE y cols., 2003).

Se descubrió al mismo tiempo el boranocarbonato (CORM-A1), que no contiene un carbonilo de metal de transición, sino un grupo carboxílico que se convierte en CO a través de la hidrólisis, puede liberar lentamente CO ($t_{1/2} = 21$ min) bajo condiciones fisiológicas. Este compuesto provoca vasodilatación gradual y efectos hipotensores que están estrictamente controladas por el pH y se pueden amplificar con el uso concomitante de sensibilizadores de la guanilato ciclasa (Motterlini R y cols., 2005).

La tercera indicación para el potencial uso de CORMs son sus múltiples actividades biológicas, que están siendo identificados progresivamente como medio para entregar CO in vitro, ex vivo e in vivo en modelos experimentales de enfermedad.

Los efectos protectores y beneficiosos de la CORMs hasta la fecha incluyen: cardioprotección frente a la isquemia y el infarto de miocardio; reducción del rechazo del injerto cardíaco y los efectos inotrópicos positivos sobre el corazón; atenuación de la respuesta inflamatoria aguda tanto in vitro como in vivo y mejora de las respuestas neuroinflamatorias en la microglia; efectos antihipertensivos y la inhibición de la agregación plaquetaria; vasodilatación y efectos antiapoptóticos en la circulación cerebral; mitigación de la captura de leucocitos hepática y la respuesta inflamatoria sistémica durante la lesión por quemadura grave; la mitigación de fotocarcinogénesis en la piel y mejora de la función renal después de una isquemia.

En particular, en las vías respiratorias humanas células del músculo liso y neutrófilos, el CO liberado de CO-RMS inhibe la actividad de la NADPH-oxidasa, una enzima hemo dependiente responsable de la producción del anión superóxido, importante en el desencadenamiento y la propagación de estrés oxidativo.

6.5. Ensayos clínicos del CO

El éxito generalizado y expandido del CO como un agente antiinflamatorio en modelos de roedores preclínicos y, el progreso adicional en modelos de primates y porcina han alimentado la aspiración continua de que el CO con el tiempo proporcione aplicaciones clínicas útiles. Los ensayos clínicos en fase I / II pronto podrían proporcionar información adicional (Tabla 4).

Un ensayo clínico en humanos demostró la viabilidad de administrar CO inhalado a los seres humanos con EPOC (Bathoorn y cols., 2007). En este estudio, los pacientes ex fumadores con EPOC estable se sometieron a la inhalación de CO (100- 125 ppm de 2 horas por día durante 4 días), lo que aumentó los niveles de CO-Hb al 4,5%. La inhalación de CO por los pacientes con EPOC estables muestra una tendencia en la reducción de los eosinófilos en el esputo y la mejora en la capacidad de respuesta de metacolina, sin efectos adversos.

En resumen, el fenotipo de protección de CO con respecto a la reducción de la inflamación en ratones se ha recapitulado parcialmente en animales superiores. Se requieren más experimentos para confirmar la seguridad y eficacia de la inhalación de CO como un tratamiento para enfermedades pulmonares inflamatorias en seres humanos. Ensayos clínicos en curso en la sepsis, ALI, y la fibrosis pueden proporcionar información adicional en un futuro próximo.

Tabla 4: Ensayos clínicos en el examen de seguridad y eficacia del CO inhalado

PATROCINADOR	TEMA	FASE	ESTADO
Hospital Brigham y de Mujeres	Efecto del CO inhalado en el tratamiento de fibrosis pulmonar idiopática	2	En marcha
Universidad de Illinois en Chicago	El CO para el tratamiento de la hipertensión pulmonar severa	1,2	En marcha
Centro Clínico de los NIH	Efecto de la prevención del CO en la inflamación pulmonar	1	Terminado
INO terapéutica	Estudio de la seguridad y tolerabilidad del CO inhalado en pacientes con trasplante renal	2	Retirado
Weill Medical College de la Universidad de Cornell	Estudio de seguridad del CO inhalado para el tratamiento del síndrome de dificultad respiratoria aguda	1	Reclutamiento

7. CONCLUSIONES

1. En la actualidad el CO, siempre considerado un gas tóxico, ha demostrado que, a concentraciones no tóxicas, es un **mediador celular**, con efectos protectores y beneficiosos para el organismo.
2. El CO puede tener efecto **vasoregulador** debido a su similitud al gas NO activando la GCs. Tiene acción **antiinflamatoria**, por disminuir la producción de citoquinas proinflamatorias y aumentar las antiinflamatorias. Por último, el CO tiene efectos **antiproliferativos** y **antiapoptóticos** regulando la vía p38 MAPK.
3. La **toxicología** del CO es debida a su gran afinidad de unión por la hemoglobina, mucho mayor que la del oxígeno, lo que conlleva una disminución en la capacidad de la sangre para entregar O₂ y, la hipoxia del tejido.
4. Respecto al uso del CO en **la terapia farmacológica** se ha demostrado que:
 - 4.1. El uso de la terapia inhalada tiene efectos protectores en varias condiciones fisiopatológicas. Si bien, su uso dependerá del modo, tiempo y duración de la aplicación, la concentración administrada, y el tejido diana.
 - 4.2. La administración del CO mediante CORMs posee un gran interés por las numerosas ventajas frente a la terapia inhalada ya que puede ser una herramienta segura y eficaz para el tratamiento de condiciones asociadas a la inflamación o estrés oxidativo.
5. Se están desarrollando **ensayos clínicos** con el objetivo de utilizar el CO en terapias de enfermedades pulmonares inflamatorias, sepsis y fibrosis, entre otras. Sin embargo, hay que confirmar la seguridad y la eficacia.

8. BIBLIOGRAFÍA

Bainbridge SA, Sidle EH, Smith GN. Direct placental effects of cigarette smoke protect women from pre-eclampsia: the specific roles of carbon monoxide and antioxidant systems in the placenta. *Med Hypotheses*. 2005; 64: 17–27. *Artículo en el que se define la preeclampsia como complicación en el embarazo y los posibles efectos beneficiosos del CO.*

Brouard S, Otterbein LE, Anrather J, et al. Carbon monoxide generated by heme oxygenase 1 suppresses endothelial cell apoptosis. *J Exp Med*. 2000; 192: 1015–1026.

Brouard S, Berberat PO, Tobiasch E, Seldon MP, Bach FH, Soares MP. Heme oxygenase-1-derived carbon monoxide requires the activation of transcription factor NF-kappa B to protect endothelial cells from tumor necrosis factor-alpha-mediated apoptosis. *J Biol Chem*. 2002; 277: 17950–17961. *Artículo en el que se explica como el CO a bajas concentraciones puede regular la apoptosis.*

Choi AM, Alam J. Heme oxygenase-1: Function, regulation, and implication of a novel stress-inducible protein in oxidant-induced lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1996; 15: 9–19.

Choi KM, Gibbons SJ, Nguyen TV, et al. Heme oxygenase-1 protects interstitial cells of Cajal from oxidative stress and reverses diabetic gastroparesis. *Gastroenterology*. 2008; 135: 2055–2064. *Artículo en el que se analizan los resultados positivos del uso del CO en un modelo de ratones con gastroparesia.*

Christou H, Morita T, Hsieh CM, et al. Prevention of hypoxia-induced pulmonary hypertension by enhancement of endogenous heme oxygenase-1 in the rat. *Circ Res*. 2000; 86: 1224–1229.

Collier, J. and Vallance, P. Second messenger role for NO widens to nervous and immune systems. *Trends in Pharmacol. Sci*. 1989; 10: 427-431. *Artículo en el que se describen los procesos fisiológicos en los que participa la GCs.*

Dubuis E, Potier M, Wang R, Vandier C. Continuous inhalation of carbon monoxide attenuates hypoxic pulmonary hypertension development presumably through activation of BKCa channels. *Cardiovasc Res*. 2005; 65: 751–761.

Durante W, Johnson FK, Johnson RA. Role of carbon monoxide in cardiovascular function. *J Cell Mol Med*. 2006; 10: 672–686.

F. Rivero-Vilches, S. de Frutos, M. Rodríguez-Puyol, D. Rodríguez-Puyol, M. Saura. Guanilato ciclasas: procesos fisiológicos mediados por GMPc. NEFROLOGÍA. Vol. XXI. Número 3. 2001. *Capítulo en el que se describe la guanilato ciclasa soluble: estructura, mecanismos de activación y los procesos fisiológicos mediados por GMPc.*

Furchgott RF, Jothianandan D. Endothelium-dependent and -independent vasodilation involving cyclic GMP: relaxation induced by nitric oxide, carbon monoxide and light. Blood Vessels. 1991; 28(1-3): 52-61. *Artículo en el que se compara la acción del NO y del CO sobre la GCs.*

Gorman D, Drewry A, Huang YL, Sames C. The clinical toxicology of carbon monoxide. Toxicology. 2003; 187: 25–38. *Artículo en el que se describe la unión del CO a la hemoglobina y su toxicidad.*

Helaine M, Hagerman A. Oxidative stress, exercise and again.1ª ed. Londres. Imperial C Press.2006. *Artículo en el que se definen los antioxidantes y su acción sobre las ROS.*

Hoetzel A, Dolinay T, Vallbracht S, et al. Carbon monoxide protects against ventilator-induced lung injury via PPAR-gamma and inhibition of Egr-1. Am J Respir Crit Care Med. 2008; 177: 1223–1232. *Artículo en el que se describen los efectos positivos demostrados del CO en la lesión pulmonar inducida por ventilación.*

Hoetzel A, Schmidt R, Vallbracht S, et al. Carbon monoxide prevents ventilator-induced lung injury via caveolin-1. Crit Care Med. 2009; 37: 1708–1715.

Kashyap PC, Choi KM, Dutta N, et al. Carbon monoxide reverses diabetic gastroparesis in NOD mice. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2010; 298: G1013–G1019.

Kim HP, Ryter SW, Choi AM. CO as a cellular signaling molecule. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2006; 46: 411–449.

Koch KW, Stryer L: Highly cooperative feedback control of retinal rod guanylate cyclase by calcium ions. Nature. 1998; 334 (6177): 64-66.

Kumar S, Bandyopadhyay U. Free heme toxicity and its detoxification systems in human. Toxicol Lett. 2005; 157: 175-88. *Artículo en el que se analizan las características del grupo hemo y se describe su elevada toxicidad bajo condiciones patológicas.*

Lee PJ, Alam J, Sylvester SL, Inamdar N, Otterbein L, Choi AMK. Regulation of heme oxygenase- 1 expression in vivo and in vitro in hyperoxic lung injury. *American Journal of*

Respiratory Cell and Molecular Biology. 1996; 14(6):556–568. *Artículo de revisión en el que se analizan los efectos de la terapia inhalatoria en diferentes patologías.*

Matute-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury. *American Journal of Physiology: Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2008; 295(3): L379–L399.

Mayer B, Hemmens B: Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells. *Trends Biochem Sci*. 1997; 22 (12): 477-81.

Melley DD, Finney SJ, Elia A, Lagan AL, Quinlan GJ, Evans TW. Arterial carboxyhemoglobin level and outcome in critically ill patients. *Crit Care Med*. 2007; 35: 1882-1887.

Meyer J, Prien T, VanAken H, Bone HG, Waurick R, Theilmeier G, Booke M. Arterio-venous carboxyhemoglobin difference suggests carbon monoxide production by human lungs. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998; 244: 230-232.

Modaresi A, Nafar M, Sahraei Z. Oxidative stress in chronic kidney disease. *Iran J Kidney Dis*. 2015; 9(3): 165-79. *Artículo en el que se definen las ROS.*

Moncada S, Palmer RM, Higgs EA: Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1991; 43: 109- 142. *Artículo de revisión que describe la importancia del NO en la vía de señalización GCs- GMPc.*

Morita T, Perrella MA, Lee ME, Kourembanas S. Smooth muscle cell-derived carbon monoxide is a regulator of vascular cGMP. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995; 92: 1475–1479. *Artículo en el que se analiza por primera vez el efecto antiproliferativo del CO en un cultivo de células.*

Morse D, Pischke SE, Zhou Z, et al. Suppression of inflammatory cytokine production by carbon monoxide involves the JNK pathway and AP-1. *The Journal of Biological Chemistry*. 2003; 278(39): 36993–36998.

Motterlini R, Foresti R, Bani-Hani MG. Use of carbon monoxide as therapeutic agent: promises and challenges. *Intensive Care Med*. 2008; 34(4):649-58. *Artículo en el que se describe al CO como marcador de la inflamación.*

Motterlini R, Otterbein LE. The therapeutic potential of carbon monoxide. *Nat Rev Drug Discov*. 2010; 9: 728–743.

Muñoz-Sánchez J, Chávez-Cárdenas ME. Hemeoxygenase-2: Focus on cellular protection and oxygen response. *Oxid Med Cell Longev*. 2014; 2014: 1-16.

Nakahira K, Kim HP, Geng XH, et al. Carbon monoxide differentially inhibits TLR signaling pathways by regulating ROS-induced trafficking of TLRs to lipid rafts. *J Exp Med*. 2006; 203: 2377–2389.

Orozco-Ibarra M, Pedraza-Chaverri J. Hemoxygenasa: aspectos básicos y su importancia en el sistema nervioso central. *Archneurocién*. 2010; 15: 47-55. *Artículo en el que se define el grupo hemo y se describen sus funciones.*

Otterbein LE, Mantell LL, Choi AMK. Carbon monoxide provides protection against hyperoxic lung injury. *American Journal of Physiology: Lung Cellular and Molecular Physiology*. 1999; 276(4): L688–L694. *Artículo en el que se describen los efectos del CO en la lesión pulmonar aguda.*

Otterbein LE, Bach FH, Alam J, et al. Carbon monoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway. *Nat Med*. 2000; 6:422–428.

Otterbein LE, Otterbein SL, Ifedigbo E, et al. MKK3 mitogen-activated protein kinase pathway mediates carbon monoxide-induced protection against oxidant-induced lung injury. *Am J Pathol*. 2003; 163: 2555–2563. *Artículo en el que se analiza la capacidad del CO de modular la actividad de la vía MAPK.*

Papas AM. Antioxidant status, diet, nutrition and health. 1ª ed. CRC Press. Florida, EEUU. 1999; 37(9-10): 999-1007. *Artículo en el que se analiza la importancia de las ROS así como su toxicidad.*

Piantadosi CA. Diagnosis and treatment of carbon monoxide poisoning. *Respir Care Clin N Am*. 1999; 5: 183–202.

Poss KD, Tonegawa S. Reduced stress defense in heme oxygenase-1 deficient cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 10925–10930.

Ryter SW, Morse D, Choi AMK. Carbon monoxide: to boldly go where NO has gone before. *Sci STKE* 2004; 230: RE6.

Ryter SW, Alam J, Choi AM. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. *Physiol Rev*. 2006; 86: 583–650. *Artículo de revisión en el que se describe el origen, la toxicología del CO y se analizan perspectivas futuras.*

Samoli E, Touloumi G, Schwartz J, et al. Short-term effects of carbon monoxide on mortality: an analysis within the APHEA project. *Environ Health Perspect.* 2007; 115: 1578–1583. *Artículo en el que se analizan los síntomas clínicos en relación con el porcentaje de carboxihemoglobina.*

Scharte M, von Ostrowski TA, Daudel F, Freise H, Van Aken H, Bone HG. Endogenous carbon monoxide production correlates weakly with severity of acute illness. *Eur J Anaesthesiol.* 2006; 23: 117-122.

Smith RP, Casarett LJ, Doull J, Klaassen CD, Amdur MO, editors. *Toxicology: the Basic Science of Poisons.* 3rd ed. New York: Macmillan. 1986; 223–224.

Suematsu M, Kashiwagi S, Sano T, Goda N, Shinoda Y, Ishimura Y. Carbon monoxide as an endogenous modulator of hepatic vascular perfusion. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994; 205: 1333–1337. *Artículo en el que se describe por primera vez la función vasoreguladora del CO.*

Tran TT, Martin P, Ly H, Balfe D, Mosenifar Z. Carboxyhemoglobin and its correlation to disease severity in cirrhotics. *J Clin Gastroenterol.* 2007; 41: 211-215.

Verma A, Hirsch DJ, Glatt CE, Ronnett GV, Snyder SH. Carbon monoxide: a putative neural messenger. *Science* 1993; 259: 381–384. *Artículo en el que se describe por primera vez funciones del CO derivado de la HO.*

Von Burg R. Carbon monoxide. *J Appl Toxicol.* 1999; 19: 379–386. *Artículo en el que se describe el origen del CO ambiental y su acción contaminante.*

Wang R. Resurgence of carbon monoxide: an endogenous gaseous vasorelaxing factor. *Can J Physiol Pharmacol.* 1998; 76: 1–15. *Artículo en el que se analizan mecanismos alternativos del CO para su función vasoreguladora.*

Wedel BJ, Garbers DL: New insights on the functions of the guanylyl cyclase receptors. *FEBS Lett.* 1997;410: 29-33. *Artículo en el que se describe la estructura de la GCp.*

Wolkoff A, Berk P, Schiff E, Maddrey W, Sorrell M. Bilirubin Metabolism and Jaundice. *Schiff's Diseases of the liver.* 2007: 214-244. *Artículo en el que se describe la reacción global catalizada por la hemoxigenasa.*

Zabel U, Häusler C, Weeger M, Schmidt H. Homodimerization of soluble guanylyl cyclase subunits. *J Biol Chem.* 1999; 274: 18149-18152. *Artículo en el que se define la GCs.*

Zhang X, Shan P, Alam J, Davis RJ, Flavell RA, Lee PJ. Carbon monoxide modulates Fas/Fas ligand, caspases, and Bcl-2 family proteins via the p38 alpha mitogen-activated protein kinase pathway during ischemia-reperfusion lung injury. *J Biol Chem.* 2003; 278: 22061–22070.

Zhang X, Shan P, Otterbein LE, et al. Carbon monoxide inhibition of apoptosis during ischemia-reperfusion lung injury is dependent on the p38 mitogen-activated protein kinase pathway and involves caspase 3. *J Biol Chem.* 2003; 278:1248–1258

Zuckerbraun BS, Chin BY, Wegiel B, et al. Carbon monoxide reverses established pulmonary hypertension. *J Exp Med.* 2006; 203:2109–2119.