

# Rola oksygenazy hemowej 1 w patogenezie nieswoistych zapaleń jelit

The role of heme oxygenase-1 in the inflammatory bowel diseases

Agata Szade, Józef Dulak, Alicja Józkowicz

Zakład Biotechnologii Medycznej Wydziału Biochemii, Biotechnologii i Biofizyki Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Przegląd Gastroenterologiczny 2009; 4 (6): 283–287

**Słowa kluczowe:** oksygenaza hemowa, nieswoiste choroby zapalne jelit, choroba Leśniowskiego-Crohna, wrzodziejące zapalenie jelita grubego.

**Key words:** heme oxygenase, inflammatory bowel disease, Crohn's disease, ulcerative colitis.

**Adres do korespondencji:** dr hab. Alicja Józkowicz, Zakład Biotechnologii Medycznej, Uniwersytet Jagielloński, ul. Gronostajowa 7, 30-387 Kraków, tel. +48 12 664 64 11, faks +48 12 664 69 18, e-mail: alicja.jozkowicz@uj.edu.pl

## Streszczenie

Na świecie obserwuje się ciągłe zwiększanie się zapadalności na nieswoiste zapalenia jelit (*inflammatory bowel disease* – IBD) – chorobę Leśniowskiego-Crohna (*Crohn's disease* – CD) oraz wrzodziejące zapalenie jelita grubego (*ulcerative colitis* – UC). Wiele aspektów ich etiologii i patogenyzy wciąż nie jest znanych. Schorzenia te mają pewne uwarunkowania genetyczne, jednak podejrzewa się, że na ich rozwój wpływają także warunki środowiskowe (np. flora jelitowa). Istotną rolę w rozwoju i przebiegu IBD odgrywają enzymy, które są zaangażowane w kontrolę reakcji zapalnych – przykładem takiego enzymu jest oksygenaza hemowa 1 (HO-1). Katalizuje ona reakcję rozkładu hemu do jonu Fe<sup>2+</sup>, tlenku węgla oraz biliwerdyny, która jest następnie przekształcana w bilirubinę. Wyniki badań dotyczących roli oksygenazy hemowej w przebiegu IBD ujawniają jej zaburzoną ekspresję w tkankach dotkniętych procesem chorobowym. Doświadczenia na modelach zwierzęcych wskazują, że indukcja ekspresji HO-1 może łagodzić przebieg choroby.

## Podstawy patogenyzy nieswoistych zapaleń jelit

Terminem „nieswoiste zapalenia jelit” (*inflammatory bowel disease* – IBD) określa się chorobę Leśniowskiego-Crohna (*Crohn's disease* – CD) oraz wrzodziejące zapalenie jelita grubego (*ulcerative colitis* – UC). Postacie IBD, w których rozróżnienie między CD oraz UC jest niemożliwe, klasyfikuje się jako *colitis indeterminata* (*indeterminate colitis*) [1]. Coraz więcej dowodów wydaje się potwierdzać hipotezę, że IBD to wiele zaburzeń spowodowanych różnymi czynnikami, które ze względu na swój fenotyp są klasyfikowane jako CD albo UC. Podejrzewa się, że główną przyczyną IBD jest nadwrażli-

## Abstract

The incidence of inflammatory bowel diseases (Crohn's disease and ulcerative colitis) is increasing constantly throughout the world. Many aspects of their pathogenesis are still not clear, although it is known that genetic predispositions (e.g. certain gene mutations) as well as environmental factors are involved in the onset of the disease. Heme oxygenase-1 (HO-1) catalyses the enzymatic breakdown of heme into the biliverdin, which is subsequently transformed into bilirubin, ferrous ion and carbon monoxide. It has been shown to control some of the inflammatory reactions. The results of many studies suggest its dysregulated expression in the inflamed tissue. Experiments on animal models show that induction of HO-1 expression may have the beneficial effects on the course of disease and can significantly decrease its complications.

wość układu immunologicznego na prawidłową florę jelitową [2]. Wiadomo, że w IBD dochodzi do wzmożonej aktywacji limfocytów T-pomocniczych (*T helper* – Th), w CD głównie Th1 oraz niedawno odkrytych Th17, natomiast w UC – Th2 [3]. Aktywowane limfocyty Th produkują bardzo dużą liczbę cytokin prozapalnych, zwłaszcza interleukin IL-12, IL-23, IL-17, IL-18, interferonu  $\gamma$  (INF- $\gamma$ ) i czynnika martwicy nowotworu  $\alpha$  (*tumor necrosis factor*  $\alpha$  – TNF- $\alpha$ ) w CD oraz IL-5 i IL-13 w UC. Obserwuje się także niedobór cytokin związanych z kontrolą procesu zapalnego – IL-10 oraz transformującego czynnika wzrostu  $\beta$  (*transforming growth factor*  $\beta$  – TGF- $\beta$ ).

Sugeruje się także nieprawidłowe działanie limfocytów T-regulatorowych (Treg) [2]. Poprzez porównywanie genomów osób zdrowych oraz pacjentów z IBD zidentyfikowano wiele genów, których mutacje zwiększają ryzyko zachorowania na te choroby, np. NOD2/CARD15 (*nucleotide-binding oligomerization domain protein 2/caspase recruitment domain family, member 15*), ATG16L1 (*autophagy related 16-like protein*), receptor IL-23 (IL-23R) czy NKX2-3 (*NK2 transcription factor related, locus 3*) [4].

### Oksygenaza hemowa

Oksygenaza hemowa jest enzymem odpowiedzialnym za rozkład hemu w organizmie. Chociaż została odkryta pod koniec lat 60. ubiegłego wieku, zainteresowanie szerszej grupy naukowców wzbudziła dopiero 20 lat później, kiedy wyróżniono jej dwie izoformy – HO-2 oraz indukowalną HO-1 [5, 6]. Są one kodowane przez dwa różne geny, u człowieka nazwane odpowiednio *ho-1* oraz *ho-2* (lub *hmx1* i *hmx2*), położone na chromosomach 22 i 16 [7]. U ludzi występują różnice w poziomie indukcji HO-1 w odpowiedzi na czynniki stresowe. Są one spowodowane prawdopodobnie polimorfizmami promotora *ho-1* [8]. Dotychczas opisano tylko jeden przypadek niedoboru HO-1 u człowieka, który był spowodowany mutacjami w allelach zarówno od matki, jak i ojca. Dotknięty nim chłopiec zmarł w wieku 6 lat z powodu patologicznych zmian w wielu narządach [9, 10].

Pojawia się coraz więcej doniesień na temat roli HO-1 w przebiegu różnych chorób, przede wszystkim układu krążenia [11], a także astmy [12], cukrzycy [11] oraz chorób autoimmunizacyjnych, takich jak reumatoidalne zapalenie stawów [13, 14], stwardnienie rozsiane [15, 16] czy łuszczyca [17, 18].

Oksygenaza hemowa 1 odgrywa także ważną rolę w procesach nowotworowych, jednak nie jest ona jednoznacznie pozytywna lub negatywna – zależy od typu, lokalizacji oraz stopnia zaawansowania nowotworu. Niektóre doniesienia sugerują, że jako enzym cytoprotekcyjny HO-1 chroni zdrowe komórki przed transformacją nowotworową. Jeżeli transformacja ta nastąpi, HO-1 poprzez działanie antyapoptotyczne oraz proangiogenne ułatwia wzrost nowotworu i jego przerzutowanie, a także wzmacnia ich oporność na radiochemioterapię, chemioterapię oraz terapię fotodynamiczną [19–22].

### Rola oksygenazy hemowej 1 w hamowaniu odpowiedzi zapalnej

Długo uważano, że jedynym pozytywnym efektem działania oksygenazy hemowej jest degradacja wolnego hemu, który w dużym stężeniu okazuje się szkodliwy dla komórek – przyczynia się do powstania stresu oksydacyjnego, a także działa prozapalnie, zwiększając przepuszczalność śródbłonna naczyń oraz ekspresję

na jego powierzchni cząsteczek adhezyjnych, takich jak ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule 1*) czy selektyna P [23]. Produkty rozkładu hemu były natomiast uznawane za niepotrzebne, a nawet szkodliwe. Istotnie, obecność jonów  $Fe^{2+}$  może powodować uszkodzenie tkanek poprzez generowanie reaktywnych form tlenu (*reactive oxygen species* – ROS) [23, 24]. U noworodków wolna bilirubina może uszkadzać komórki nerwowe po przekroczeniu bariery krew–mózg [23]. Tlenek węgla jest postrzegany głównie jako toksyczny gaz, który – jeśli jest obecny w zwiększonym stężeniu we wdychanym powietrzu – nieodwracalnie łączy się z hemoglobina i prowadzi w krótkim czasie do zgonu [7]. Wykrycie przeciwwzapalnych i antyoksydacyjnych własności produktów reakcji HO-1 spowodowało zwiększenie zainteresowania rolą tego enzymu w przebiegu procesów zapalnych.

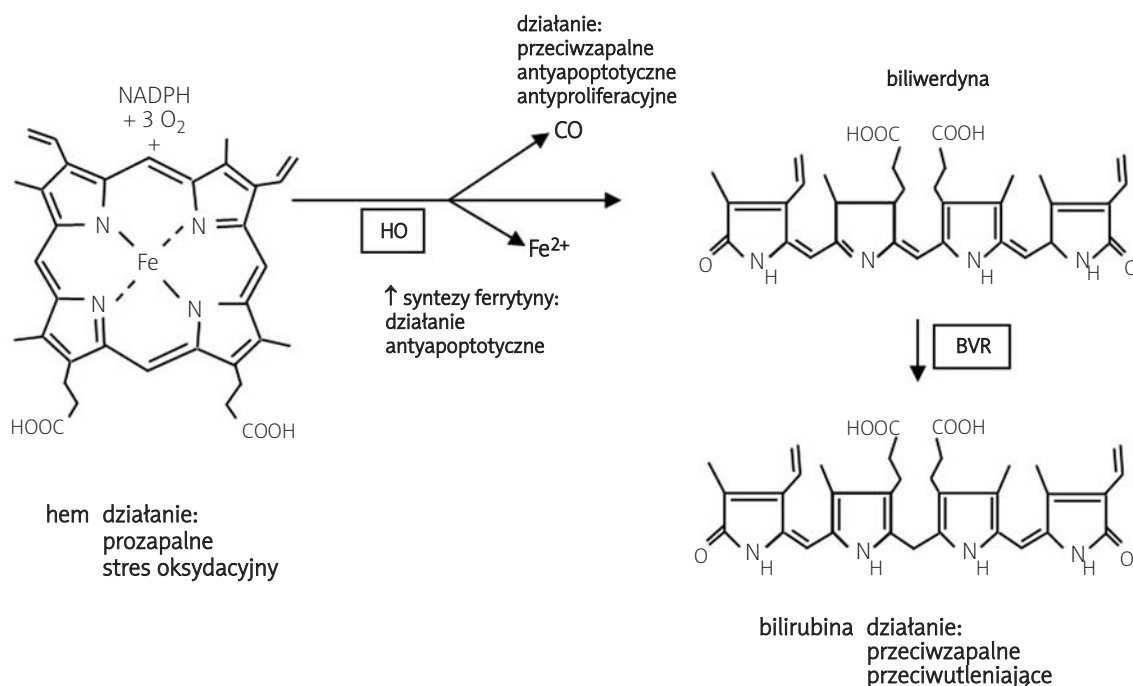
Zwiększona ekspresja HO-1 oraz uwalnianie  $Fe^{2+}$  pociąga za sobą jednoczesny wzrost ekspresji ferrytyny, która oprócz wiązania  $Fe^{2+}$  ma działanie cytoprotekcyjne [7], a czasami antyapoptotyczne [11]. Bilirubina w małych stężeniach działa przeciwwzapalnie i przeciwutleniająco – wychwytuje reaktywne formy tlenu i azotu [7] oraz hamuje interakcje neutrofilii ze śródbłonkiem i aktywację limfocytów T-cytotoksycznych [25].

Najintensywniej badanym spośród produktów reakcji rozkładu hemu wydaje się tlenek węgla (CO). Podobnie jak tlenek azotu, CO okazał się ważną cząsteczką w sygnalizacji międzykomórkowej. Powoduje zwiększenie stężenia cGMP (cykliczny guanozyno-5'-monofosforan), dzięki czemu ma działanie antykoagulacyjne [26]. Zmniejsza także produkcję cytokin prozapalnych, takich jak IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  oraz białko zapalne makrofagów  $\alpha$  (*macrophage inflammatory protein  $\alpha$*  – MIP1 $\alpha$ ), oraz ekspresję cząsteczek adhezyjnych, jednocześnie zwiększając produkcję interleukiny przeciwzapalnej IL-10. W niektórych typach komórek CO działa antyproliferacyjnie [7], może natomiast zwiększać proliferację komórek śródbłonna [11]. Wpływa także na przekazywanie sygnałów z niektórych receptorów TLR (*toll like receptors*), bardzo ważnych w inicjacji odpowiedzi immunologicznej przeciwko patogenom [27].

Wiele prac dotyczących korzystnego działania CO na organizm dotyczy wykorzystania związków uwalniających go (*carbon monoxide releasing molecule* – CORM). Pozytywne wyniki doświadczeń z wykorzystaniem CORM dają nadzieję na ich przyszłe zastosowanie w terapii [28].

### Analiza ekspresji i aktywności oksygenazy hemowej u chorych na nieswoiste zapalenia jelit

Oksygenaza hemowa 1 wydaje się ważnym czynnikiem wpływającym na przebieg IBD. Wykazano, że w patogenezie tych chorób istotną rolę odgrywają wol-



**Ryc. 1.** Reakcja katalizowana przez HO-1. Przy udziale tlenu cząsteczkowego i NADPH hem jest rozkładany do CO, Fe<sup>2+</sup> oraz rozpuszczalnej biliwerdyny, która jest następnie przekształcana przez reduktazę biliwerdyny w nierozpuszczalną bilirubinę (na podstawie [7, 24], zmodyfikowane)

**Fig. 1.** Catalytic reaction of HO-1. Heme is degraded into CO, Fe<sup>2+</sup> and biliverdin. The reaction requires molecular oxygen and NADPH. Water-soluble biliverdin is further reduced to insoluble bilirubin by biliverdin reductase

ne rodniki/reaktywne formy tlenu [26], które indukują ekspresję HO-1, a także są inaktywowane przez produkt katalizowanej przez nią reakcji.

Przeprowadzono kilka badań klinicznych, w których porównywano ekspresję HO-1 w jelitach między chorymi na UC i CD oraz grupami kontrolnymi (osoby zdrowe lub osoby z innymi chorobami jelit). W barwieniach immunohistochemicznych komórki zawierające HO-1 wykrywano w błaznce właściwej błony śluzowej. Były to głównie jednojądrzaste komórki układu odpornościowego, a u pacjentów z IBD także komórki powierzchni nabłonka i komórki krypt [29, 30].

W pracy Barton i wsp. wykazano obecność HO-1 w wycinkach jelita zarówno u osób zdrowych, jak i u osób z CD i UC. Osoby z aktywnym UC wykazywały zwiększoną ekspresję HO-1 w porównaniu z osobami zdrowymi oraz chorymi z nieaktywnym UC. Podczas analizy wycinków od osób z CD nie znaleziono jednak istotnych statystycznie różnic między aktywnym i nieaktywnym CD oraz grupą kontrolną [29].

Paul i wsp. zaobserwowali rozproszony obraz ekspresji HO-1 w obrębie nabłonka jelit u chorych na IBD w porównaniu z osobami, u których proces zapalny towarzyszył innym chorobom jelit. U tych ostatnich eks-

presja HO-1 wzrastała wraz ze stopniem zapalenia w ocenie histologicznej, natomiast takiej korelacji nie zauważono u pacjentów z IBD, wśród których u osób z wysoką histologiczną oceną stanu zapalnego ekspresja HO-1 malała. Wyniki te sugerują, że w przypadku IBD regulacja ekspresji HO-1 jest zaburzona [31].

Podobne wyniki barwień immunohistochemicznych na obecność HO-1 w jelitach pacjentów z UC uzyskali Takagi i wsp. Dodatkowo poszerzyli oni badania o pomiar stężenia CO w świetle jelita metodą chromatografii gazowej. W porównaniu z osobami zdrowymi, u pacjentów z UC wykazano większe stężenie tego związku w odbytnicy. U pacjentów z aktywnym UC stwierdzono ponadto większe jego stężenia w odbytnicy niż u chorych w okresie remisji [30].

### **Efekt indukcji ekspresji oksygenazy hemowej u zwierząt z eksperymentalnie wywołanym wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego**

Uwzględniając obiecujące wyniki wstępnych analiz ekspresji HO-1 u chorych na IBD, rozpoczęto badania na modelach zwierzęcych (myszy lub szczury). Jednym z celów eksperymentów było sprawdzenie, czy indukcja

ekspresji HO-1 może hamować rozwój procesu zapalnego oraz zapobiegać powikłaniom UC. Wykorzystano modele IBD bazujące na wywołaniu stanu zapalnego poprzez zakłócenie integralności nabłonka przy użyciu środków chemicznych – kwas trinitrobenzoesowy (*trinitrobenzene sulfonic acid* – TNBS), a także DSS (*dextran sodium sulphate*) [32].

Grupa Wang przeprowadziła analizę ekspresji HO-1 w różnych punktach czasowych po indukcji UC za pomocą TNBS u szczurów [26]. Po podaniu TNBS zaobserwowano zwiększenie ekspresji HO-1 na poziomie mRNA i białka oraz aktywności enzymatycznej HO-1. Wykazano także zwiększoną produkcję wolnych rodników oraz ekspresję indukowalnej syntazy tlenu azotu (*inducible nitric oxide synthase* – iNOS). Podanie inhibitora HO-1 – SnMP (mezoporfiryny cyny) – hamowało wzrost ekspresji i aktywności enzymu, powodowało dalszy wzrost ekspresji iNOS i produkcji wolnych rodników, a także skutkowało nasileniem choroby (określanym za pomocą pomiaru powierzchni uszkodzeń jelita i testu aktywności mieloperoksydazy) [26].

Kolejne prace skupiały się na zastosowaniu znanych induktorów HO-1, m.in. CoPP (protoporfiryna kobaltu) [31], hemu, chlorku kadmu [33], glutaminy [34] i oktreotydu (sandostatyny) [35], podawanych dootrzewnowo [31, 35], podskórnie [33] lub dożołądkowo [34].

W pierwszych eksperymentach induktor podawano po wywołaniu UC za pomocą DSS. Nie zaobserwowano jednak korzystnych efektów działania HO-1 [31]. Z tego też powodu w kolejnych badaniach skupiono się na profilaktycznej indukcji HO-1. Induktory podawano zwierzętom przed aplikacją TNBS i kontynuowano podawanie w czasie trwania eksperymentu. Dzięki indukcji HO-1 różne zespoły uzyskiwały u zwierząt doświadczalnych w porównaniu z grupami kontrolnymi: zmniejszenie stanu zapalnego jelit i wydzielania INF- $\gamma$  [31], redukcję uszkodzenia jelita i aktywności mieloperoksydazy [33] oraz zwiększenie stężenia glutationu z jednoczesnym zmniejszeniem ekspresji NF- $\kappa$ B [34, 35] i zmniejszeniem aktywności kaspazy 3 [34].

W jednym z eksperymentów badano wpływ syntetycznej pochodnej chalkonu – TMMC [2',4',6'-*tris* (*methoxymethoxy*)*chalcone*], na UC wywołane za pomocą TNBS u myszy. Jak wykazano wcześniej w innych modelach doświadczalnych, TMMC indukuje ekspresję HO-1. Stwierdzono, że związek ten zapobiega UC, a także hamuje ekspresję cząsteczki adhezyjnej ICAM-1, IL-1 $\beta$  oraz TNF- $\alpha$ . Autorzy sugerują, że część przeciwzapalnych efektów działania TMMC zależy od HO-1. Aby wyjaśnić mechanizm indukcji ekspresji HO-1, pracę uzupełniono badaniami *in vitro*. Pokazały one, że zwiększenie stężenia HO-1 po inkubacji komórek linii HT-29 z TMMC poprzedza translokacja czynnika transkrypcyjnego Nrf2

(*nuclear factor-erythroid 2-related factor 2*) do jądra komórkowego [36].

Rolę Nrf2 w IBD badano także u myszy z wyłączonym genem kodującym Nrf2 (Nrf2 $-/-$ ). Zwierzęta te były bardziej podatne na UC wywołane podaniem DSS niż myszy typu dzikiego. Brak Nrf2 wiązał się ze zmniejszeniem stężenia kilku enzymów cytoprotekcyjnych, w tym HO-1 [37].

## Podsumowanie

Oksygenaza hemowa 1 odgrywa ważną rolę w kontroli reakcji zapalnej. Istnieją doniesienia, w których wykazano, że ekspresja tego enzymu w ścianie jelit osób chorych na IBD jest nieprawidłowa. Obserwacje te zachęciły do badań nad możliwością terapeutycznej indukcji ekspresji HO-1 u pacjentów z IBD. Pierwsze wyniki doświadczeń na modelach zwierzęcych wydają się obiecujące – enzym ten może pełnić funkcję ochronną przed wystąpieniem IBD oraz łagodzić ich przebieg. Daleko jeszcze do pełnego zrozumienia mechanizmów reakcji zapalnej w IBD i roli, jaką odgrywa w niej HO-1. Badania nad tym enzymem być może pozwolą nam dokładniej poznać sam mechanizm zapalenia, a także mogą prowadzić do stworzenia nowych strategii leczenia chorych na IBD.

## Piśmiennictwo

1. Geboes K, Colombel JF, Greenstein A, et al.; Pathology Task Force of the International Organization of Inflammatory Bowel Diseases. Indeterminate colitis: a review of the concept – what's in a name? *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 850-7.
2. Eksteen B, Liaskou E, Adams DH. Lymphocyte homing and its role in the pathogenesis of IBD. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1298-312.
3. Blumberg RS. Crohn disease. *JAMA* 2008; 300: 439-40.
4. Cho JH. The genetics and immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 458-66.
5. Morse D, Choi AM. Heme oxygenase-1: the "emerging molecule" has arrived. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 27: 8-16.
6. Maines MD, Trakshel GM, Kutty RK. Characterization of two constitutive forms of rat liver microsomal heme oxygenase. Only one molecular species of the enzyme is inducible. *J Biol Chem* 1986; 261: 411-9.
7. Ryter SW, Alam J, Choi AM. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. *Physiol Rev* 2006; 86: 583-650.
8. Exner M, Minar E, Wagner O, Schillinger M. The role of heme oxygenase-1 promoter polymorphisms in human disease. *Free Radic Biol Med* 2004; 37: 1097-104.
9. Yachie A, Toma T, Mizuno K, et al. Heme oxygenase-1 production by peripheral blood monocytes during acute inflammatory illnesses of children. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003; 228: 550-6.
10. Kawashima A, Oda Y, Yachie A, et al. Heme oxygenase-1 deficiency: the first autopsy case. *Hum Pathol* 2002; 33: 125-30.

11. Łoboda A, Jazwa A, Grochot-Przeczek A, et al. Heme oxygenase-1 and the vascular bed: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal* 2008; 10: 1767-812.
12. Pae HO, Lee YC, Chung HT. Heme oxygenase-1 and carbon monoxide: emerging therapeutic targets in inflammation and allergy. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov* 2008; 2: 159-65.
13. Devesa I, Ferrándiz ML, Terencio MC, et al. Influence of heme oxygenase-1 modulation on the progression of murine collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 3230-8.
14. Devesa I, Ferrándiz ML, Guillén I, et al. Potential role of heme oxygenase-1 in the progression of rat adjuvant arthritis. *Lab Invest* 2005; 85: 34-44.
15. Schipper HM. Heme oxygenase expression in human central nervous system disorders. *Free Radic Biol Med* 2004; 37: 1995-2011.
16. Chora AA, Fontoura P, Cunha A, et al. Heme oxygenase-1 and carbon monoxide suppress autoimmune neuroinflammation. *J Clin Invest* 2007; 117: 438-47.
17. Hanselmann C, Mauch C, Werner S. Haem oxygenase-1: a novel player in cutaneous wound repair and psoriasis? *Biochem J* 2001; 353: 459-66.
18. Wojas-Pelc A, Marcinkiewicz J. What is a role of haeme oxygenase-1 in psoriasis? Current concepts of pathogenesis. *Int J Exp Pathol* 2007; 88: 95-102.
19. Jozkowicz A, Was H, Dulak J. Heme oxygenase-1 in tumors: is it a false friend? *Antioxid Redox Signal* 2007; 9: 2099-117.
20. Was H, Cichon T, Smolarczyk R, et al. Overexpression of heme oxygenase-1 in murine melanoma: increased proliferation and viability of tumor cells, decreased survival of mice. *Am J Pathol* 2006; 169: 2181-98.
21. Nowis D, Legat M, Grzela T, et al. Heme oxygenase-1 protects tumor cells against photodynamic therapy-mediated cytotoxicity. *Oncogene* 2006; 25: 3365-74.
22. Nowis D, Bugajski M, Winiarska M, et al. Zinc protoporphyrin IX, a heme oxygenase-1 inhibitor, demonstrates potent antitumor effects but is unable to potentiate antitumor effects of chemotherapeutics in mice. *BMC Cancer* 2008; 8: 197.
23. Wagener FA, Volk H, Willis D, et al. Different faces of the heme-heme oxygenase system in inflammation. *Pharmacol Rev* 2003; 55: 551-71.
24. Florczyk UM, Jozkowicz A, Dulak J. Biliverdin reductase: new features of an old enzyme and its potential therapeutic significance. *Pharmacol Rep* 2008; 60: 38-48.
25. Naito Y, Takagi T, Yoshikawa T. Heme oxygenase-1: a new therapeutic target for inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20 Suppl 1: 177-84.
26. Wang WP, Guo X, Koo MW, et al. Protective role of heme oxygenase-1 on trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G586-94.
27. 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: 2377-89.
28. Foresti R, Bani-Hani MG, Motterlini R. Use of carbon monoxide as a therapeutic agent: promises and challenges. *Intensive Care Med* 2008; 34: 649-58.
29. Barton SG, Rampton DS, Winrow VR, et al. Expression of heat shock protein 32 (hemoxygenase-1) in the normal and inflamed human stomach and colon: an immunohistochemical study. *Cell Stress Chaperones* 2003; 8: 329-34.
30. Takagi T, Naito Y, Tsuboi H, et al. Increased intestinal luminal carbon monoxide gas in patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther Symp Series* 2006; 2: 233-8.
31. Paul G, Bataille F, Obermeier F, et al. Analysis of intestinal haem-oxygenase-1 (HO-1) in clinical and experimental colitis. *Clin Exp Immunol* 2005; 140: 547-55.
32. Wirtz S, Neurath MF. Mouse models of inflammatory bowel disease. *Adv Drug Deliv Rev* 2007; 59: 1073-83.
33. Varga C, Laszlo F, Fritz P, et al. Modulation by heme and zinc protoporphyrin of colonic heme oxygenase-1 and experimental inflammatory bowel disease in the rat. *Eur J Pharmacol* 2007; 561: 164-71.
34. Giriş M, Erbil Y, Dođru-Abbasođlu S, et al. The effect of heme oxygenase-1 induction by glutamine on TNBS-induced colitis. The effect of glutamine on TNBS colitis. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22: 591-9.
35. Erbil Y, Giriş M, Abbasođlu SD, et al. Effect of heme oxygenase-1 induction by octreotide on TNBS-induced colitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1852-8.
36. Lee SH, Sohn DH, Jin XY, et al. 2',4',6'-tris (methoxymethoxy) chalcone protects against trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis and blocks tumor necrosis factor-alpha-induced intestinal epithelial inflammation via heme oxygenase 1-dependent and independent pathways. *Biochem Pharmacol* 2007; 74: 870-80.
37. Khor TO, Huang MT, Kwon KH, et al. Nrf2-deficient mice have an increased susceptibility to dextran sulfate sodium-induced colitis. *Cancer Res* 2006; 66: 11580-4.