

35. Oxidative Stress and type 2 Diabetes Mellitus, M.A.Abdul-Ghani and R.A.DeFronzo, Aging Medicine, Oxidative Stress in Aging 2008
36. Peripheral Vascular Disease in Patients with Diabetes Mellitus, B.Auliyola, A.D.Hamdan and F.W.LoGerfo Contemporary Cardiology,
37. The influence of cardiovascular disease on quality of life in type 2 diabetics, C.L. de Visser et al, Quality of Life Research 2002
38. The state of leucocyte adhesiveness/aggregation in the peripheral blood of patients with type 2 diabetes and ischemic vascular disease, R.Fusman et al, Acta Diabetologica 2001
39. Topographic distribution of peripheral arteriopathy in non-diabetics and type 2 diabetics, Peter Lanzer, Zeitschrift fur Kardiologie 2001
40. Transcriptional regulation of plasminogen activator inhibitor-1 in vascular endothelial cells induced by oxidized very low density lipoproteins, R.Zhao et al, Mol Cell Biochem 2008
41. Unifying Hypothesis of Diabetic Complications, Takeshi Matsumara and Michael Brownlee, Contemporary Endocrinology, Controversies in Treating Diabetes 2008
42. Involvement of advanced glycation end products in pathogenesis of of diabetic complication: the protective role of regular physical activity, P.M..Magalhaes, H.J.Annel and J.A.Duarte, European Review of Aging and Physical Activity 2008.

MONOXIDUL DE CARBON – MESSENGER GAZOS ÎN CIRCULAȚIA CEREBROVASCULARĂ

Ala Ambros, Leonid Lîsîi, Inga Cebotari, Daniela Rusu, Cristina Luțcan
Catedra de Biochimie și Biochimie Clinică USMF „N.Testemițanu”

Summary

Carbon monoxide as a gaseous messenger in the cerebrovascular circulation

The primary objectives of this article are to review the potential role of carbon monoxide (CO) as an endogenous mediator in cerebrovascular circulation. It is produced from heme by a constitutively expressed enzyme (heme oxygenase (HO)-2) expressed highly in the brain and by an inducible enzyme (HO-1). CO production is regulated by controlling substrate availability, HO-2 catalytic activity, and HO-1 expression. CO dilates arterioles by binding to heme that is linked to large conductance Ca²⁺ activated K⁺ channels (BK_{Ca} channels), which elevates channel Ca²⁺ sensitivity, increases coupling of Ca²⁺ sparks to BK_{Ca} channel openings and, thereby, hyperpolarizes the vascular smooth muscle. In addition to dilating blood vessels, CO can either inhibit or accentuate vascular cell proliferation and apoptosis, depending on conditions.

Rezumat

Rolul monoxidului de carbon (CO) ca mediator endogen în circulația cerebrovasculară reprezintă conținutul acestui articol. Este produs de hem la acțiunea unei enzime constitutive (hemoxigenaza (HO)-2) expresată intens în creier și a unei enzime inductibile (hemoxigenaza (HO)-1). Sinteza CO este reglată prin controlul cantității de substrat disponibil, activitatea catalitică a HO-2 și expresia HO-1. CO induce dilatarea arteriolelor prin cuplarea cu proteina hem și atașarea acestui complex la canalele BK_{Ca}, mărind astfel afinitatea canalelor față de ionii de Ca²⁺. Ulterior are loc cuplarea ionilor la canal și activarea lor, ceea ce duce la hiperpolarizarea membranei prin transportul ionilor de K⁺ în exteriorul celulei. În afară de acțiunea vasodilatatoare, CO poate inhiba sau induce atât proliferarea, cât și apoptoza celulelor vasculare, în dependență de condiții.

Actualitatea temei

În ultimii ani s-a conturat un nou concept al neurotransmiterii bazat pe participarea posibilă a unor substanțe endogene gazoase.

Conceptul existenței unor semnale gazoase endogene cu potențial posibil de mesageri chimici intercelulari își are originea în observația efectelor inhibitorii ale vaporilor de etilen asupra creșterii și dezvoltării plantelor. Interesul participării unor asemenea semnale chimice alături de neurotransmițătorii și neurohormonii clasici la realizarea transmiterii de informații de la o celulă la alta, a crescut substanțial odată cu descoperirea formării de oxid nitric (NO), monoxid de carbon (CO) și hidrogen sulfurat (H₂S) la nivelul diverselor țesuturi și organe animale și umane.

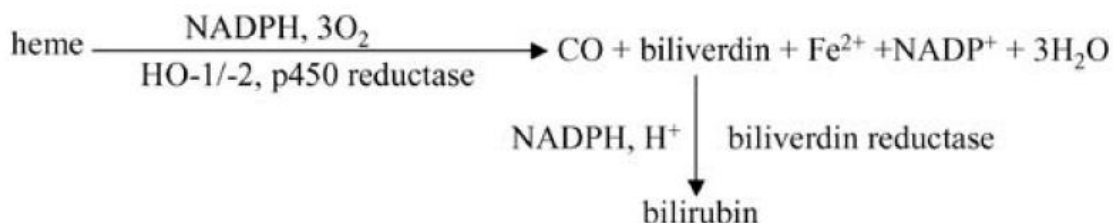
Dovezile experimentale pledează în favoarea participării acestor semnale gazoase ca o nouă clasă de mesageri chimici transportori de informații biologice inter- și intracelulare. Aceste semnale diferă de neurotransmițătorii tipici prin faptul că sunt sintetizați de toate tipurile de celule, nu sunt stocați și nici eliberați prin exocitoză din vezicule preformate, nu au receptori specifici și transmit informații prin difuziune atât în sens anterograd postsinaptic cât și retrograd presinaptic.

CO - cunoscut ca gaz toxic formator de carboxihemoglobină blocantă a transportului de O₂ în țesuturi, CO este considerat din 1990 încoace ca un nou factor endogen gazos prevăzut cu funcții diverse. Vreman HJ și Stevenson DH (1988) au semnalat că CO rezultă din degradarea hemului hemoglobinei sub influența enzimei hemoxigenaza (HO). Ulterior s-a constatat că există trei izoforme ale HO (HO-1, HO-2, HO-3).

Formarea și eliberarea de CO e dependentă de conținutul în hem, rezultat din degradarea hemoglobinei și de prezența hemoxigenazelor în aproape toate țesuturile și organele, excepție făcând doar hematitele lipsite de hemoxigenază. Prin urmare, mecanismele care reglează producerea de hem celular, vor regla, de asemenea, și producerea de CO[58].

Sinteza hemului celular este un proces ce are loc în mai multe etape, care include atât elemente mitocondriale cât și citoplasmatic. Etapa limitantă a procesului este rata de producere a acidului delta-amino-levulinic din succinil-CoA și glicină, reacție catalizată de delta-amino-levulinat sintază (ALAS) ce are loc în mitocondrii [21, 42]. Activitatea ALAS este strict reglată prin feed-back negativ de hem și hemină (hem oxidat).

Metabolizarea enzimatică a hemului de către hemoxigenaze se soldează cu clivarea inelului porfirinic al acestuia pentru a forma cantități echimolare de CO și biliverdină reductibilă în bilirubină, însoțită de eliberarea Fe²⁺ utilizabil la sinteza feritinei [38]. (vezi schema de jos)



Localizarea izoformelor HO și reglarea expresiei HO-1 și HO-2

Hemoxigenaza-1 (HO-1) - izoenzimă inductibilă este un polipeptid format din 288 de aminoacizi, cu masa moleculară de 32kDa. HO-1 este prioritar sintetizată în splină și ficat și are rolul de a elimina hemul potențial toxic eliberat din eritrocitele degradate[38]. În celulele endoteliale a arterei pulmonare, HO-1 e situată în caveolele din membrana plasmatică. Caveolinele din caveole reglează activitatea enzimatică a HO-1[23].

În condiții normale, în endoteliul vaselor cerebrale, expresia HO-1 lipsește [10,32,48,46]. Expresia HO-1 poate fi indusă de factorii de stres ca: metaloporfirinele hemului, metale grele, citokine, stres oxidativ, lipide oxidate[1,7,9,11,16,20,27,29,37,39,46,50]. Inducerea expresiei HO-1 este reglată la nivelul transcripției genei. La promotor are loc legarea unor multiple elemente regulatorii specifice: elemente de răspuns la stres, elemente de răspuns antioxidant AREs, în asociere cu factorii transcripționali redox senzitivi Nrf2[41,45], factorii nucleari kappa B

(NFXB) [28] și AMPc ca element de răspuns[27]. Inducerea expresiei genei HO-1 are loc și la legarea la Enhancer box, localizată proximal de promotorul genei, a Leucinei zigzac din familia factorilor de transcripție USF1 și USF2.[14]

Hemoxigenaza-2 (HO-2) umană prezintă un polipeptid de 316 aminoacizi, cu masa moleculară de 36kDa, izoenzimă constitutivă care este expresată în condiții homeostatice cu funcția de a scinda hemul pentru a genera CO, fier și biliverdină printr-o reacție dependentă de citocromul P450 reductaza(CPR), cu reducere de NADPH. Expresia majoră a HO-2 a fost depistată în creier și în endoteliul vaselor cerebrale[33,37,39]. Participă la reglarea fluxului sanguin și medierea activității neuronale.

HO-1 și HO-2 au un domeniu comun din 24 de aminoacizi ce formează centrul catalitic pentru hem, excepție făcând doar un aminoacid. [39]

HO-1 și HO-2 sînt proteine membranare ancorate în membrana reticulului endoplasmatic prin intermediul capătului C-terminal hidrofob [52]. Ambele izoforme sînt localizate la nivelul membranei nucleare, ariei citoplasmice perinucleare și membranei reticulului endoplasmatic [48]. Prezența în regiunea promotorului a unui glucocorticoid induce expresia genei HO-2 [36]. Deci, singurii reglatori cunoscuți în expresia HO-2 sînt hormonii steroizi.

Reglarea activității catalitice a HO-2 diferă în funcție de tipul de celule și țesut. Activitatea catalitică a HO-2 este controlată de bilirubină printr-un feedback negativ [37], iar în neuroni poate fi stimulată prin fosforilarea serinei 79, de către kinaza 2 [3].

HO intracelular corespunde localizării enzimelor: oxid-nitric-sintaza (NOS), ciclooxigenaza (COX), ceea ce indică o comunicare funcțională între CO, NO și prostoglandine. În endoteliul vaselor, HO-2 este localizată împreună cu canalele BK_{Ca}[59] ce asigură controlul circulator cerebral, prin faptul că CO derivat din HO-2 activează canalele BK_{Ca} ceea ce duce la relaxarea musculaturii netede vasculare.

Hemoxigenaza-3 (HO-3) are o activitate și o expresie mai scăzută la nivelul creierului.[51] Genele ce codifică sinteza HO-3 sunt pseudogene și derivă din transcripții HO-2 și nu au funcție semnificativă cunoscută [13].

Din cele 3 izoenzime ale HO descoperite pînă în prezent, HO-2 se conține îndeosebi în capilarele cerebrale. Prin Western blot în capilarele cerebrale proaspăt izolate a fost detectată doar expresia genei HO-2 [48].

Inhibitorii hemoxigenazelor (metaloporfirine și Zn-protoporfirina (ZPP)), deprimă efectele relaxante ale stimulării noradrenergice și noncolinergice (NANC) fără să afecteze conținutul și acțiunile locale ale NO, sugerînd participarea CO ca neurotransmițător la realizarea acestor efecte [2,58].

Mecanismul dilatării cerebrovasculare

Mărirea concentrației de Ca²⁺ intraneuronal se realizează pe 2 căi: prin canale de Ca²⁺ voltaj dependente (VGCC) sau prin eliberarea din rezervele intracelulare (din reticulul endoplasmatic). Ionii de Ca²⁺ induc fosforilarea PKC(protein kinaza C), care activează CK2 (serin kinaza 2). CK2 duce la activarea HO-2 din membrana reticulului endoplasmatic (ER), care ulterior scindează hemul pentru a genera CO[12] (vezi Fig.1).

CO poate activa guanilil ciclaza solubilă (SGC) [4] și canalele de K⁺ - Ca²⁺ dependente .

Glutamatul este principalul neurotransmițător excitator implicat în transmisia sinaptică. În prezent se cunosc cinci categorii de receptori glutamatergici: NMDA (N-metil-D-aspartat), kainat, AMPA (acid amino-3hidroxi-5metilizoxazol-4propionic), L-AP4 (L 2amino-4fosfonobutirat), ACDP (1,3 acid dicarboxilic trans-1-aminociclopentan). Primele trei categorii sunt canale ionice ligand dependente, chiar numele lor fiind dat în funcție de agoniștii care se leagă selectiv de ei. Următoarele două categorii sunt receptori de glutamat metabolotropici cuplați cu proteina G [55].

Receptorii glutamați agoniști provoacă răspunsuri funcționale în celulele cerebrale vasculare endoteliale, care includ: mărirea activității HO, modificări în permeabilitatea endoteliului, amplificarea formării de SRO (specii reactive de O₂).

La activarea glutamatergică a HO-2 prin stimularea metaboltropică a receptorilor de glutamat are loc: eliberarea de Ca^{2+} , activarea PKC și fosforilarea serin 79 de către CK2.[4]

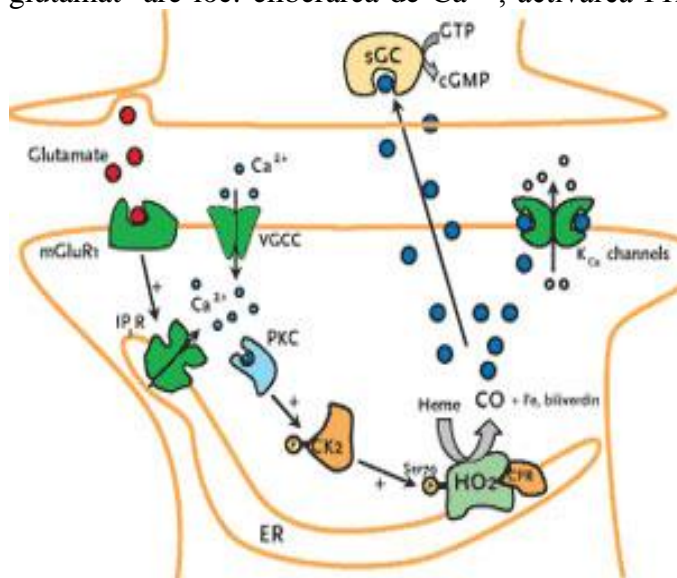


Fig.1 Sinteza de CO

A fost sugerată ideea ca CO poate induce semnale celulare prin activarea GMPc, la care participă și hemoxigenaza [46,40]. CO este un activator al GMPc mult mai slab ca NO [22,24,25], dar prezența unei substanțe endogene poate mări afinitatea CO la GC [8,57]. Totuși implicarea GMPc în dilatarea cerebrovasculară indusă de CO rămâne discutabilă.

În vasodilatarea indusă de CO, GMPc este un factor permisiv iar concentrația acestuia în proces rămîne constantă [26,30]. În contrast cu GMPc, s-a demonstrat că vasodilatarea indusă de CO este mediată de activarea canalelor BK_{Ca} , reglate de concentrația CO și activitatea HO, O_2 participă în reglare indirect prin implicarea sa în metabolismul hemului [4,32,60], unde modificarea chimică a resturilor de histidină induce blocarea can BK_{Ca} , ce indică importanța acestui aminoacid și localizarea lui în structura canalului [59].

CO activează canalul BK_{Ca} , prin intermediul α -subunității care conține un buzunaraș pentru hem[56]. Atașarea hemului duce la mărirea sensibilității acestuia pentru ionii de Ca^{2+} [17]. În celulele musculare netede canalele BK_{Ca} sînt activate la concentrații micromolare a ionilor de calciu [18], interacțiunea acestora cu canalul induce tranziția ionilor de K^+ în afară urmată de hiperpolarizarea membranei celulare care ulterior reduce activitatea canalelor de calciu voltaj-dependente și în acelaș timp și concentrația ionilor de calciu. Atît CO endogen cît și CO exogen măresc amplitudinea și frecvența transportului prin canalele BK_{Ca} , prin cuplarea efectivă a ionilor de calciu.[19]

În circulația cerebrovasculară la purcei, emisiile de CO interacționează cu alte două derivate cu acțiune vasodilatatoare NOX (oxid nitric sintaza) și COX (prostaglandin ciclooxigenaza). Inactivarea NOX sau COX conduce la inhibiția vasodilatării indusă de CO[31]. Contribuțiile NO și prostacilinei sînt permissive doar la concentrația suficientă de substrat, înainte de inducerea vasodilatării de CO. Acțiunile NO și prostacilina sînt mediate de protein kinaza G, dar doar NO acționează prin intermediul GMPc [30]. La moment nu a fost determinată dacă acțiunea protein kinaza G este legată de can BK_{Ca} , rianodin receptor sau alt mecanism.

Efectele protectoare ale HO / CO și reglarea circulației cerebrovasculare în timpul crizelor epileptice

Unele date științifice confirmă că CO contribuie la reglarea fluxului sanguin cerebral în timpul crizelor epileptice.[6,43,49]. Inhibitorii HO - CrMP și SnPP micșorează producția de CO de către creier și reduce dilatarea cerebrală ca răspuns la convulsii [47,49]. Creșterea rapidă a producției de CO în timpul crizelor epileptice este atribuită exclusiv HO-2 [6,46], iar creșterea rapidă a activității enzimatice a HO-2 în vascularizarea cerebrală are loc printr-un mecanism mediat de glutamat receptor.

Crizele epileptice apar în disfuncția vasculară cerebrală prelungită caracterizată prin vasoreactivitatea redusă la dilatatori fiziologici relevanți, inclusiv hipercapnie și bradikinină. [46]

Când activitatea HO-2 este inhibată înaintea convulsiilor disfuncția vasculară cerebrală se observă imediat după episodul ictal și se prelungeste pentru cel puțin 2 zile din perioada postictală [6,46]. Însă la animale cu activitatea HO-2 intactă, reactivitatea vasculară cerebrală este redusă cu 2 zile mai târziu. [4,34]

Activitatea HO-2 este necesară pentru o protecție pe termen scurt, dar nu este suficientă pentru protecția pe termen lung a vascularizației cerebrale de la efectele negative ale crizelor epileptice, spre deosebire de HO-1 care poate oferi protecție pe termen lung împotriva disfuncției vasculare cerebrale postictale.

CO, apoptoza și proliferarea celulară

Se consideră, CO poate suprima apoptoza ca urmare a inhibării caspazelor. [5,53,61]

CO poate inhiba producerea de către mitocondrii a radicalilor liberi printr-o interacțiune directă cu proteina hem a lanțului de transport a electronilor mitocondriali, sau interacționează cu p38 MAPK (p38 mitogen-activated protein kinase) sau GMPc. Acestea fiind căi de semnalizare care pot modula apoptoza într-o celulă. [53]

Au fost depistate și efecte pro-apoptotice ale CO [54]. Se pare că abilitatea lui CO de a suprima sau de a promova apoptoza depinde de semnalul apoptotic specific și tipul de celulă.

În plus față de efectele asupra apoptozei, CO poate afecta circulația cerebrovasculară prin reglementarea proliferării celulelor vasculare. CO poate reduce proliferarea celulelor endoteliale cauzată de hipoxie provenită de la inhibarea producerii de VEGF de către musculatura netedă vasculară adiacentă [35]. Această acțiune, la fel pare a fi mediată prin intermediul GMPc, prin scăderea obligatorie a unui amplificator hipoxic la hipoxie factorul inductibil-1.

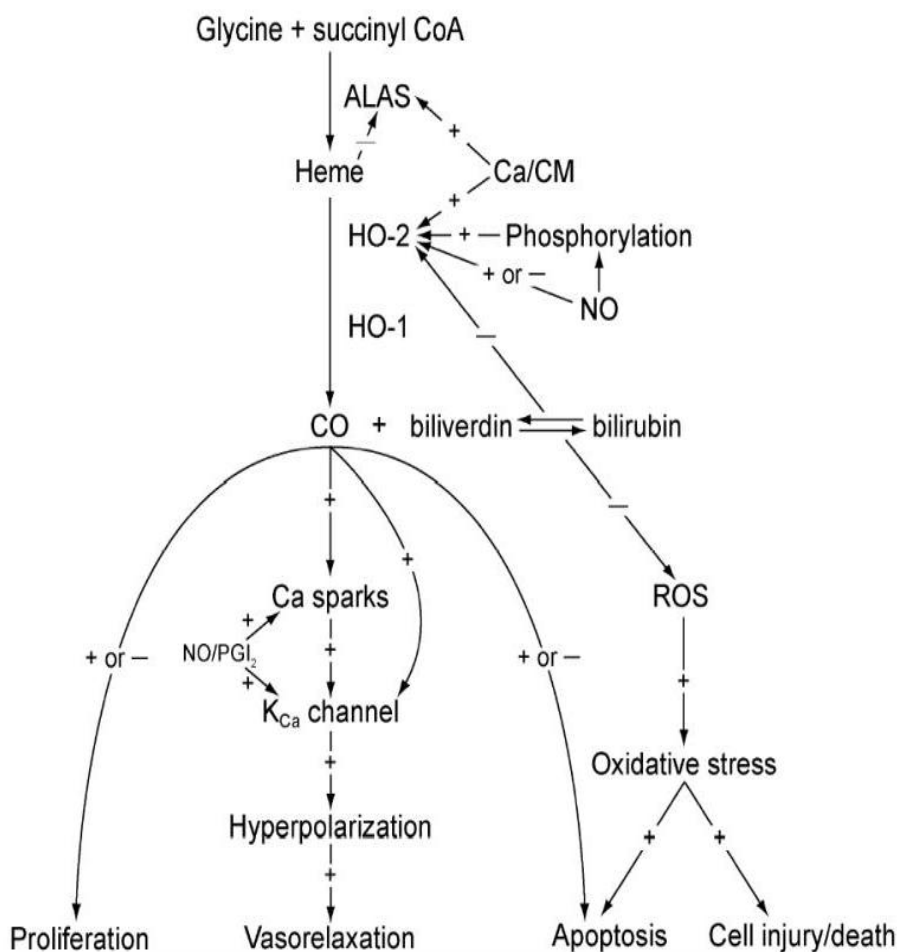


Fig 2

Ca urmare a traumelor vasculare, precum și a hipoxiei, CO suprimă proliferarea musculaturii netede vasculare prin creșterea GMPc celular, care activează p38 mitogen-activated protein kinase, up-regulating caveolin-1, care previne proliferarea. [22]

S-a demonstrat că CO e capabil să promoveze proliferarea celulelor endoteliale microvasculare.[22]

Astfel, în funcție de condiții, stimulii de fond, și de tipul specific a celulelor, CO poate stimula sau inhiba apoptoza și proliferarea celulelor.

Bibliografie

1. Abraham NG, Botros FT, Rezzani R, Rodella L, Bianchi R, Goodman AI. Differential effect of cobalt rotoporphyrim on distributions of heme oxygenase in renal structure and on blood pressure in SHR. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2002;48:895–902. [PubMed: 12699248]
2. Bild W., Haulica I. EXISTA NEUROMEDIA.IE CHIMICA GAZOASA? *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iași – 2007 – vol. III, nr.1*
3. Boehning D, Moon C, Sharma S, Hurt KJ, Hester LD, Ronnett GV, Shugar D, Snyder SS. Carbon monoxide neurotransmission activated by CK2 phosphorylation of heme oxygenase-2. *Neuron* 2003;40:129–137. [PubMed: 14527438]
4. Boehning D, Snyder SH. Novel neural modulators. *Ann Rev Neurosci* 2003;26:105–131. [PubMed: 14527267]
5. Brouard S, Otterbein LE, Anrather J, Tobiasch E, Bach FH, Choi AM, Soares MP. Carbon monoxide generated by heme oxygenase 1 suppresses endothelial cell apoptosis. *J Exp Med* 2000;192:1015–1026. [PubMed: 11015442]
6. Carratu P, Pourcyrous M, Fedinec A, Leffler CW, Parfenova H. Endogenous heme oxygenase prevents impairment of cerebral vascular functions caused by seizures. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:H1148–H1157. [PubMed: 12915392]
7. Caudill TK, Resta TC, Kanagy NL, Walker BR. Role of endothelial carbon monoxide in attenuated vasoreactivity following chronic hypoxia. *Am J Physiol* 1998;275:R1025–R1030. [PubMed:9756530]
8. Colpaert EE, Timmermans JP, Lefebvre RA. Investigation of the potential modulatory effect of biliverdin, carbon monoxide and bilirubin on nitrenergic neurotransmission in the pig gastric fundanus. *Eur j Pharmacol* 2002;457:177–186. [PubMed: 12464364]
9. Dwyer BE, Nishimura RN, Lu SY. Differential expression of heme oxygenase-1 in cultured cortical neurons and astrocytes determined by the aid of a new heme oxygenase antibody. Response to oxidative stress. *Brain Res Mol Brain Res* 1995;30:37–47. [PubMed: 7609642]
10. Ewing JF, Weber CM, Maines MD. Biliverdin reductase is heat resistant and coexpressed with constitutive and heat shock forms of heme oxygenase in brain. *J Neurochem* 1993;61:1015–23. [PubMed: 8360669]
11. Foresti R, Sarathchandra P, Clark JE, Green CJ, Motterlini R. Peroxynitrite induces haem oxygenase-1 in vascular endothelial cells: a link to apoptosis. *Biochem J* 1999;339:729–736. [PubMed: 10215613]
12. Greener M., Now You're Signaling, With Gas. *The Scientist* 2004
13. Hayashi S, Omata Y, Sakamoto H, Higashimoto Y, Hara T, Sagara Y, Noguchi M. Characterization of rat heme oxygenase-3 gene. Implication of processed pseudogenes derived from heme oxygenase-2 gene. *Gene* 2004;336 :241–50. [PubMed: 15246535]
14. Hock TD, Nick HS, Agarwal A. Upstream stimulatory factors, USF1 and USF2, bind to the human haem oxygenase-1 proximal promoter in vivo and regulate its transcription. *Biochem J* 2004;383:209–18. [PubMed: 15242350]
15. Hosein S, Marks GS, Brien JF, McGlaughlin BE, Nakatsu K. An extracellular source of heme can induce a significant heme oxygenase mediated relaxation in the rat aorta. *Can J Physiol Pharmacol* 2002;80:761–5. [PubMed: 12269785]
16. Immenschuh S, Ramadori. Gene regulation of heme oxygenase-1 as a therapeutic target. *Biochem Pharmacol* 2000;60:1121–1128. [PubMed: 11007950]

17. Jaggar, JH, A. Li, H. Parfenova, J. Liu, E. S. Umstot, A. M. Dopico, and C. W. Leffler. Heme is a carbon monoxide receptor for large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels. *Circ. Res.* (in press)
18. Jaggar JH, Porter VA, Lederer WJ, Nelson MT. Calcium sparks in smooth muscle. *Am J Physiol* 2000;278:C235–C256.
19. Jaggar JH, Leffler CW, Cheranov SY, Tcheranova D, E S, Cheng X. Carbon monoxide dilates cerebral arterioles by enhancing the coupling of Ca²⁺ sparks to Ca²⁺-activated K⁺ channels. *Circ Res* 2002;91:610–617. [PubMed: 12364389]
20. Kietzmann T, Samoylenko A, Immenschuh S. Transcriptional regulation of heme oxygenase-1 gene expression by MAP kinases of the JNK and p38 pathways in primary cultures of rat hepatocytes. *J Biol Chem* 2003;278:17927–17936. [PubMed: 12637567]
21. Kikuchi G, Hayashi N. Regulation by heme of synthesis and intracellular translocation of deltaaminolevulinic synthase in the liver. *Mol Cell Biochem* 1981;37:27–41. [PubMed: 6789140]
22. Kim HP, Wang X, Nakao A, Kim SI, Murase N, Choi ME, Ryter SW, Choi AM. Caveolin-1 expression by means of p38beta mitogen-activated protein kinase mediates the antiproliferative effect of carbon monoxide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:11319–24. [PubMed: 16051704]
23. Kim HP, Wang X, Galbiati F, Ryter SW, and Choi AMK. Caveolae compartmentalization of heme oxygenase-1 in endothelial cells. *FASEB J* 2004;18:1080–1089. [PubMed: 15226268]
24. Kimura H. Hydrogen sulfide as a neuromodulator. *Mol Neurobiol* 2002;26:13–19. [PubMed: 12392053]
25. Koehler R, Traystman RJ. Cerebrovascular effects of carbon monoxide. *Antiox Redox Signal* 2002;4:279–290
26. Koneru P, Leffler CW. Role of cyclic GMP in carbon monoxide induced vasodilation in piglets. *Am J Physiol* 2004;286:H304–H309.
27. Kronke G, Bochkov VN, Huber J, Gruber F, Bluml S, Furnkranz A, Kadl A, Binder BR, Leitinger N. Oxidized phospholipids induce expression of human heme oxygenase-1 involving activation of cAMP-responsive element-binding protein. *J Biol Chem* 2003;278:51006–51014. [PubMed:14523007]
28. Lavrovsky Y, Schwartzman ML, Abraham NG. Novel regulatory sites of the human heme oxygenase-1 promoter region. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;196:336–41. [PubMed:8216309]
29. Lee PJ, Hiang B, Chin B, Iyer N, Alam J, Semenza G, Choi A. Hypoxia-inducible factor-1 mediates transcriptional activation of the heme oxygenase gene in response to hypoxia. *J Biol Chem* 1997;272:5373–5381.
30. Leffler CW, Fedinec AL, Parfenova H, Jaggar JH. Permissive contributions of NO and prostacyclin in CO-induced cerebrovascular dilation in piglets. *Am J Physiol* 2005;289:H432–H438.
31. Leffler CW, Nasjletti A, Johnson RA, Fedinec AL. Contributions of prostacyclin and nitric oxide to carbon monoxide induced cerebrovascular dilation in newborn pigs. *Am J Physiol* 2001;280:H1490–H1495.
32. Leffler CW, Nasjletti A, Yu C, Johnson RA, Fedinec AL, Walker N. Carbon monoxide and cerebral microvascular tone in newborn pigs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999;276:H1641–H1646.
33. Li Volti G, Ientile R, Abraham NG, Vanella A, Cannavo G, Mazza F, Curro M, Raciti G, Avola R, Campisi A. Immunocytochemical localization and expression of heme oxygenase-1 in primary astroglial cell cultures during differentiation: effect of glutamate. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;315:517–524. [PubMed: 14766239]
34. Li Volti G, Sacerdoti D, Sangras B, Vanella A, Mezentssev A, Scapagnini G, Falck JR, Abraham NG. Carbon monoxide signaling in promoting angiogenesis in human microvessel endothelial cells. *Antiox&Redox Signal* 2005;7:704–710.

35. Liu Y, Christou H, Morita T, Laughner E, Semenza GL, Kourembanas S. Carbon monoxide and nitric oxide suppress the hypoxic induction of vascular endothelial growth factor gene via the 5' enhancer. *J Biol Chem* 1998;273:15257–62. [PubMed: 9614141]
36. Liu N, Wang X, McCoubrey WK, Maines MD. Developmentally regulated expression of two transcripts for heme oxygenase-2 with a first exon specific to rat testis; control by corticosterone of the oxygenase protein expression. *Gene* 2000;241:175–183. [PubMed: 10607912]
37. Maines MD. Carbon monoxide: an emerging regulator of cGMP in the brain. *Mol Cell Neurosciences* 1993;4:389–397.
38. Maines MD. The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997;37:517–554. [PubMed: 9131263]
39. Maines MD. The heme oxygenase system and its functions in the brain. *Cell Mol Biol* 2000;46:573–585. [PubMed: 10872744]
40. Marks GS, Brien JF, Nakatsu K, McGlaughlin BE. Does carbon monoxide have a biological function? *Trends Pharmacol Sci* 1991;12:185–8. [PubMed: 1862533]
41. Martin D, Rojo AI, Salinas M, Diaz R, Gallardo G, Alam J, De Galarreta CM, Cuadrado A. Regulation of heme oxygenase-1 expression through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway and the Nrf2 transcription factor in response to the antioxidant phytochemical carnosol. *J Biol Chem* 2004;279:8919–8929. [PubMed: 14688281]
42. May BK, Bhasker CR, Bawden MJ, Cox TC. Molecular regulation of 5-aminolevulinic acid synthase. Diseases related to heme biosynthesis. *Mol Biol Med* 1990;7:405–421. [PubMed: 2095458]
43. Montecot C, Seylaz J, Pinard E. Carbon monoxide regulates cerebral blood flow in epileptic seizures but not in hypercapnia. *Neuroreport* 1998;9:2341–2346. [PubMed: 9694225]
44. Naik JS, Walker BR. Heme oxygenase-mediated vasodilation involves vascular smooth muscle cell hyperpolarization. *Am J Physiol* 2003;285:H220–H228.
45. Nguyen T, Sherratt PJ, Pickett CB. Regulatory mechanisms controlling gene expression mediated by the antioxidant response element. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2003;43:233–260. [PubMed:12359864]
46. Parfenova H, Carratu P, Tcheranova D, Fedinec A, Pourcyrous M, Leffler CW. Epileptic seizures cause extended cerebral vascular dysfunction that is prevented by HO-1 overexpression. *Am J Physiol* 2005;288:H2843–H2850.
47. Parfenova H, Daley ML, Carratu P, Leffler CW. Heme Oxygenase Inhibition Reduces Neuronal Activation Evoked by Bicuculline in Newborn Pigs. *Brain Res* 2004;1014:87–96. [PubMed: 15212995]
48. Parfenova H, Neff RA III, Alonso JS, Shlopov BV, Jamal CN, Sarkasova SA, Leffler CW. Cerebrovascular endothelial heme oxygenase: expression, intracellular compartmentalization, and activation by glutamate. *Am J Physiol* 2001;281:C1954–C1963.
49. Pourcyrous M, Bada H, Parfenova H, Daley M, Korones S, Leffler CW. Cerebrovasodilatory contribution of endogenous carbon monoxide during seizures in newborn pigs. *Pediatr Res* 2002;51:579–585. [PubMed: 11978880]
50. Ryter SW, Choi AMK. Heme oxygenase-1: molecular mechanisms of gene expression in oxygen-related stress. *Antiox Redox Signal* 2002;4 :625–632.
51. Scapagnini G, D'Agata V, Calabrese V, Pascale A, Colombrita C, Alkon D, Cavallaro S. Gene expression profiles of heme oxygenase isoforms in the rat brain. *Brain Res* 2002;954:51–59. [PubMed: 12393232]
52. Schuller DJ, Wilks A, Ortiz de Montellano PR, Poulos TL. Crystal structure of human heme oxygenase-1. *Nat Struct Biol* 1999;6:860–867. [PubMed: 10467099]
53. Soares MP, Usheva A, Brouard S, Berberat PO, Gunther L, Tobiash E, Bach FH. Modulation of endothelial cell apoptosis by heme oxygenase-1-derived carbon monoxide. *Antiox Redox Signaling* 2002;4:321–328.

54. Song R, Zhou Z, Kim PK, Shapiro RA, Liu F, Ferran C, Choi AM, Otterbein LE. Carbon monoxide promotes Fas/CD95-induced apoptosis in Jurkat cells. *J Biol Chem* 2004;279:44327–44334. [PubMed: 15280387]
55. Stahl S.M. *Psychopharmacology of Antipsychotics*, ed. Martin Dunitz, London 1999, pp. 6-13.
56. Tang XD, Rong X, Reynolds MF, Garcia ML, Heinemann SM, Hoshi T. Haem can bind to and inhibit mammalian calcium-dependent Slo1 BK channels. *Nature* 2003;425:531–535. [PubMed:14523450]
57. Tulis DA. Salutary properties of YC-1 in the cardiovascular and hematological systems. *Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents* 2004;2:343–59. [PubMed: 15320784]
58. Vreman HJ, Stevenson DH. Heme oxygenase activity as measured by carbon monoxide production. *Anal Biochem* 1988; 168: 31.38.
59. Williams SE, Wootton P, Mason HS, Bould J, Iles DE, Riccardi D, Peers C, Kemp PJ. Hemoxygenase-2 is an oxygen sensor for a calcium-sensitive potassium channel. *Science* 2004;306:2093–2097. [PubMed: 15528406]
60. Zhang F, Kaide J, Wei Y, Jiang H, Yu C, Balazy M, Abraham NG, Wang W, Nasjletti A. Carbon monoxide produced by isolated arterioles attenuates pressure-induced vasoconstriction. *Am J Physiol* 2001;281:H350–H358.
61. Zhang X, Shan P, Otterbein LE, Alam J, Flavell RA, Davis RJ, Choi AM, Lee PJ. Carbon monoxide inhibition of apoptosis during ischemia-reperfusion lung injury is dependent on the p38 mitogenactivated protein kinase pathway and involves caspase 3. *J Biol Chem* 2003;278:1248–1258. [PubMed: 12399465]

ATEROTROMBOZA

Ala Ambros, Leonid Lisii, Svetlana Bobcov, Svetlana Protopop, Radu Tabac
Catedra Biochimie și Biochimie clinică USMF „Nicolae Testemițanu”

Summary

Atherothrombosis

There are a lot of modifications in arterial wall in atherosclerosis; the most important is the phenomenon of thrombosis. The formation of thrombus is determined by the action of two groups of factors: the first- homeostatic independent factors (superficial erosion and rupture of fibrous cap), the second group-modifications in homeostasis: endothelial dysfunction, modifications in fibrinolysis, decrease of natural inhibitors, increase of some coagulation factors, platelets hyperactivity. Evolution of mural thrombus presents a risk for cerebral accidents, myocardial infarction, peripheral manifestations of ischemia.

Rezumat

În patologia aterosclerotică sunt înregistrate un șir de modificări locale ale peretelui vascular, cea mai importantă fiind formarea trombului mural. Instalarea lui are loc sub acțiunea factorilor homeostatici independenți - eroziunea și fisurarea plăcii, expunerea componentelor înalt trombogene cât și a modificărilor homeostaziei locale- disfuncția endotelială și a sistemului fibrinolitic, scăderea ponderii inhibitorilor naturali, creșterea concentrației unor factori ai coagulării, hiperactivitate trombocitară. Evoluția trombului se manifestă prin accidente cerebrale, infarct miocardic, ischemie periferică dar poate decurge și asimptomatic.

Obiectivul

Elucidarea mecanismului trombotic în patologia clasică și a factorilor implicați în modificarea homeostaziei sanguine.