

Aspiryna – 115 lat po odkryciu

Aspirin – 115 years after the discovery

Sławomir Smolik, Ludmiła Węglarz

STRESZCZENIE

Aspiryna jest lekiem dostępnym komercyjnie od ponad stu lat, chociaż wciąż brakuje głębszego zrozumienia mechanizmu jej działania jako inhibitora aktywności cyklooksygenazy i syntezy prostanoidów. Niedawne odkrycia dotyczące centralnej roli płytek krwi w patofizjologii chorób układu sercowo-naczyniowego oraz identyfikacja nowych mediatorów lipidowych syntetyzowanych w obecności aspiryny nasiliły badania nad mechanizmami działania aspiryny.

SŁOWA KLUCZOWE

aspiryna, eikozanoidy, zapalenie

ABSTRACT

Aspirin has been known as a commercial drug for over a century, however, a much deeper understanding of its mechanism of action as an inhibitor of cyclooxygenase (COX) activity and thus, of prostanoid synthesis, is still lacking. Recent advances in understanding the central role of platelets in the pathophysiology of cardiovascular diseases and the identification of novel lipid mediators synthesized in the presence of aspirin have increased research upon the mechanisms of aspirin action.

KEY WORDS

aspirin, eicosanoids, inflammation

Katedra i Zakład Biochemii
Wydziału Farmaceutycznego
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego
w Katowicach

ADRES DO KORESPONDENCJI:

Dr n. farm. Sławomir Smolik
Katedra i Zakład Biochemii
Wydziału Farmaceutycznego
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego
w Katowicach
ul. Narcyzów 1
41-200 Sosnowiec
tel. +48 32 364 10 03
e-mail: epimer@wp.pl

Ann. Acad. Med. Siles. 2013, 67, 1, 67–73
Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny
w Katowicach
ISSN 0208-5607

Efekt analgetyczny salicylanów zawartych w korze wierzby znany był już w czasach Hipokratesa, ich właściwości przeciwgorączkowe poznano ponad 100 lat temu. Ester acetylowy kwasu salicylowego (aspiryna, *acetylsalicylic acid* – ASA) został zsyntetyzowany w 1897 r. przez Felixa Hoffmana, a jego właściwości analgetyczne i przeciwgorączkowe opisał Heinrich Dreser w 1899 r. Początkowo głównie używano go do leczenia reumatoidalnych stanów zapalnych, a jego

właściwości antyagregacyjne zauważono dopiero pod koniec lat 60. ubiegłego wieku. Niedawne odkrycia receptorów obecnych na płytkach krwi oraz nowych metabolitów powstających z przemian nienasyconych kwasów tłuszczowych pozwoliły dogłębnie zrozumieć mechanizm działania ASA i różne, zależne od dawki, kierunki jego działania farmakologicznego [1]. Celem niniejszej pracy jest omówienie nowych, molekularnych mechanizmów działania aspiryny, ze szczegól-

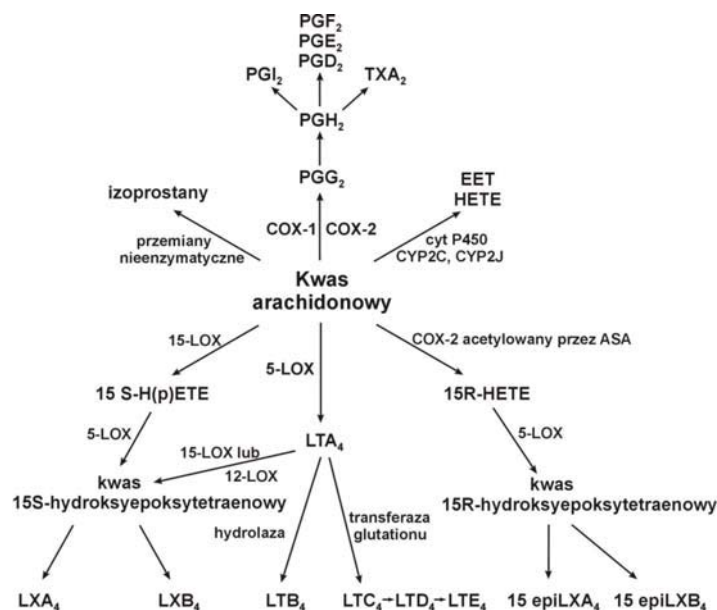
nym uwzględnieniem metabolitów odpowiedzialnych za wygaszenie reakcji zapalnej.

Efekty zależne od izoenzymów cyklooksygenazy

Wpływ aspiryny i innych niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) na aktywność cyklooksygenazy (COX) opisali po raz pierwszy w 1971 r. Vane i wsp., którzy analizowali homogenat komórkowy z płuc świnek morskich inkubowany z kwasem arachidonowym i różnymi stężeniami aspiryny, indometacyny oraz salicylanu sodu. Autorzy pracy zauważyli inhibicję syntezy prostaglandyny $\text{PGF}_{2\alpha}$ przez wszystkie trzy leki w sposób zależny od dawki. Wskazywało to na zdolność ASA i innych NLPZ do hamowania aktywności COX i tłumaczyło obserwowane od wielu lat działania niepożądane terapii z zastosowaniem NLPZ (uszkodzenie błony śluzowej żołądka, toksyczny wpływ na nerki i inhibicję agregacji płytek) [2,3]. Wpływ ASA ukierunkowany jest na szlak rozpoczynający się uwolnieniem kwasu arachidonowego z fosfolipidów błonowych przez fosfolipazę A_2 . Wolny kwas arachidonowy jest substratem w czterech

różnych szlakach biochemicznych, katalizowanych przy udziale trzech grup enzymów z rodziny COX, lipooksygenaz (LOX) i monoooksygenaz z rodziny cytochromu P450 oraz może ulegać nieenzymatycznym przekształceniom wolnorodnikowej peroksydacji tworząc izoprostany (ryc. 1).

Kwas arachidonowy jest metabolizowany przez syntazę prostaglandynową (PGHS, syntaza prostaglandynowa G/H, syntaza prostaglandynowo-endoperoxydowa, COX) zdolną za-równo do cyklizacji arachidonianu, jak i wprowadzenia grupy wodoronadlenkowej i utworzenia endonadtlenku PGG_2 . Ten sam enzym ma zdolność redukcji grupy wodoronadtlenkowej do grupy hydroksylowej, tworząc endonadtlenek PGH_2 . Ten ostatni związek jest substratem dla specyficznych tkankowo syntaz wytwarzających tromboksan TXA_2 , prostacyklinę PGI_2 i prostaglandyny (PGD_2 , PGE_2 i $\text{PGF}_{2\alpha}$). Wielokierunkowe działanie farmakologiczne prostaglandyn wynika z oddziaływania z receptorami cytoplazmatycznymi sprzężonymi z białkami G (EP1-EP4) i jądrowymi receptorami aktywowanymi proliferatorami peroksydomów (PPAR α , γ i δ) [4].



Ryc. 1. Szlak przemian metabolicznych kwasu arachidonowego.
Fig. 1. Arachidonic acid metabolic pathway c.

Cyklooksygenaza występuje w postaci dwóch różnych izoform o znacznym stopniu homologii sekwencji aminokwasowej, tj. COX-1 i COX-2. Pierwsza ulega stałej ekspresji w retikulum endoplazmatycznym większości komórek i uczestniczy w syntezie niezbędnych do utrzymania homeostazy ustroju prostaglandyn odpowiedzialnych za ochronę błony śluzowej żołądka, właściwe ukrwienie nerek, wzrost

i rozwój nerwów, gojenie ran, owulację i regulację aktywności płytek. Za najistotniejsze efekty działania COX-1 uznaje się syntezę tromboksanu w płytkach i wzrost przepływu krwi przez nerki i żołądek w odpowiedzi na działanie czynników naczyniokurczących. Tkanki te stają się głównym miejscem działań niepożądanych, uwarunkowanych wpływem leków hamujących aktywność COX-1.

Izofорма COX-2 ulega ekspresji w komórkach na niskim lub niewykrywalnym poziomie, który znacząco wzrasta głównie w stanach zapalnych w odpowiedzi na reaktywne formy tlenu, endotoksyny bakteryjne, cytokiny i czynniki wzrostu. Jednak wbrew początkowym hipotezom przypisującym COX-2 jedynie rolę izoenzymu indukowanego stanem zapalnym, wykazano wiele fizjologicznych efektów działania tej izoformy w różnych tkankach i stanach chorobowych, co uczyniło ją enzymem o dużym znaczeniu funkcjonalnym. Odpowiada ona za wydzielanie reniny, rozwój struktur układu nerwowego oraz ich adaptację do odpowiedzi na działanie różnych bodźców, wytwarzanie PGI₂, gojenie ran i implantację zapłodnionej komórki jajowej. Stałą aktywność COX-2 stwierdzono w mózgu, nerkach i w niewielkiej ilości, w nowotworzących się płytkach i blaszkach miażdżycowych [5].

Aspiryna, jako jedyny lek spośród NLPZ, jest nieodwracalnym inhibitorem COX poprzez acetylację reszty serynowej (w pozycji 530 COX-1 i 516 COX-2), tworząc rodzaj zawady sterycznej blokującej wąski kanał hydrofobowy, przez który kwas arachidonowy dostaje się do centrum aktywnego enzymu, którego istotną częścią jest reszta tyrozyny w pozycji 385. Tyrozyna w tej pozycji zdolna jest do tworzenia formy rodnikowej przyciągającej atom wodoru z trzynastego atomu węgla kwasu arachidonowego, co prowadzi do powstania rodnika arachidonowego. Rodnik ten, w reakcji cyklizacji i peroksydacji, stworzy stabilny endonadtlenek PGH₂. W ludzkich trombocytach PGH₂ wytworzony pod wpływem COX-1 jest bezpośrednim prekursorem do syntezy PGD₂, PGE₂, PGF₂, PGI₂ oraz TXA₂, będącego głównym prostanoidem odpowiedzialnym za skurcz naczyń i aktywację płytek krwi. Wykazano, że supresja 95% aktywności COX-1 w płytkach krwi inhibuje zależną od TXA₂ agregację płytek i efekt ten obserwuje się już przy niskich dawkach ASA. Efekt inhibujący syntezę TXA₂ jest nasilony przez PGI₂ o działaniu wazodylatoryjnym i hamującym agregację płytek krwi. W przeciwieństwie bowiem do bezjądrzastych płytek, komórki śródbłonna naczyniowego mogą resyntezować nową pulę COX-2 i zregenerować ilość PGI₂ w ciągu kilku godzin. Inhibicja aktywności COX-1 trwa przez cały czas życia płytki (około 10–12 dni) i dopiero nowopowstałe trombocyty posiadają w pełni aktywny enzym [6].

Aspiryna jest 170 razy silniejszym inhibitorem COX-1 w stosunku do COX-2, stąd do uzyskania efektu przeciwwzapalnego potrzebne są dawki leku znacznie wyższe od dawek antyagregacyjnych. Efektem inhibicji COX-2 i COX-1 przez ASA jest więc zahamowanie syntezy TXA₂ przy zachowanej produkcji PGI₂ [3]. Izofорма COX-1 podlega alternatywnemu składaniu, tworząc transkrypt z zachowanym pierwszym intronem zwanym (niesłusznie) COX-3 [7]. Nie jest znany

wpływ ASA na aktywność tego transkryptu. Dawka dobową ASA wynosząca 30–100 mg hamuje 90% aktywności COX-1 u większości osób z prawidłowym metabolizmem płytek. Wysokie dawki ASA (300–500 mg) hamują syntezę prostaglandyn, co dobrze tłumaczy działanie przeciwwzapalne, przeciwgorączkowe i przeciwbólowe związane z zahamowaniem syntezy TXA₂ i zniesienie oddziaływania PGE₂ na ośrodek termoregulacji w podwzgórzu. Aspiryna użyta w wysokich dawkach nie działa jednak antyagregacyjnie z powodu zahamowania aktywności COX-1 zarówno w płytkach krwi, jak i w komórkach śródbłonna naczyniowego [4].

Efekty zależne od lipooksygenazy

Zahamowanie aktywności COX nie tłumaczy wszystkich obserwowanych efektów działania ASA, w szczególności zdolności tego związku do ograniczenia migracji leukocytów do miejsca zapalenia. Niektóre z efektów działania ASA tłumaczy jego zdolność do uruchamiania syntezy lipoksyn i ich form epimerycznych. Działanie to obserwuje się jedynie po zastosowaniu niskich dawek ASA (poniżej 100 mg). Lipoksyny (LX) i 15-epimeryczne formy (15-epi-LX) są pierwszymi opisanymi mediatorami pochodzącymi z kaskady kwasu arachidonowego o działaniu przeciwwzapalnym. Są to endogenne czynniki przeciwwzapalne powstające w trzech szlakach metabolicznych zależnie od typu komórek [9].

W komórkach epitelialnych dróg oddechowych i neutrofilach lipoksyny A₄ i B₄ (LXA₄ i LXB₄) powstają w wyniku sekwencyjnego działania dwóch lipooksygenaz 15-LOX i 5-LOX z udziałem produktu pośredniego, tj. kwasu 15(S)-hydroperoksyseikozaetraenowego (15S-HpETE). W neutrofilach wielojądrzastych i płytkach krwi działają kolejno 5-LOX i 12-LOX, wytwarzając lipoksyny LXA₄ i LXB₄. Związkiem pośrednim w tym szlaku przemian jest leukotrien A₄ (LTA₄), który pod wpływem 12-LOX może ulec przekształceniu do lipoksyny A₄ (LXA₄) [10]. Natomiast w monocytach, komórkach nabłonka lub komórkach śródbłonna do syntezy lipoksyn niezbędna jest aktywność COX-2 i 5-LOX.

Izofорма COX-2 musi występować w postaci acetylowanej po uprzednim działaniu ASA. Kwas acetylosalicylowy hamuje nieodwracalnie COX-1, jednak acetylacja COX-2 przez ASA nie powoduje całkowitej utraty aktywności tego izoenzymu. Acetylowana COX-2 nie może wytwarzać prostaglandyn, ale zdolna jest do przekształcenia kwasu arachidonowego do kwasu 15(R)-hydroksyseikozaetraenowego (15-R-HETE), który następnie jest metabolizowany przez 5-lipooksygenazę do 15-epimerycznych lipoksyn A₄ i B₄ (15-epi-LXA₄ i 15-epi-LTB₄). Związki te zwane są 15-epi-lipoksynami lub ATL (*aspirin triggered lipoxin*), co podkreśla niezbędność ASA do ich syntezy

w organizmie. Inne NLPZ nie są zdolne do tworzenia 15-epi-LXA₄, a selektywne inhibitory COX-2 (np. celecoxib) zapobiegają powstaniu 15-epi-LXA₄ indukowanym przez ASA. Dawka 100 mg ASA przyjmowana przez co najmniej 8 dni jest przyczyną obecności ATL w moczu osób zdrowych.

Aktywność farmakologiczna lipoksyn i 15-epi-lipoksyn jest podobna. Lipoksyny hamują wytwarzanie TNF- α w limfocytach T, zmniejszają ilość IL-8 (prozapalna chemokina produkowana przez makrofagi i komórki endotelium, która stymuluje migrację neutrofilów) oraz IL-12, w monocytach i makrofagach hamują aktywację czynnika transkrypcyjnego NF κ B i tworzenie nadtlenoazotynu, zmniejszają chemotaksję i adhezję neutrofilów oraz hamują degranulację eozynofili. Ponadto LXA₄ prowadzi do wzrostu syntezy PGI₂ i tlenku azotu (NO), czynników wazodylatacyjnych, nasilających działanie przeciwzapalne ASA. Indukcja syntezy NO jest skorelowana z dawką ASA i redukcją akumulacji leukocytów w miejscu zapalenia. Żaden inny NLPZ nie jest zdolny do indukcji syntezy NO, co podkreśla wyjątkowość ASA w obrębie tej klasy leków [11].

Zdolność ASA do indukcji syntezy NO jest drugim ważnym mechanizmem, obok hamowania syntezy prostaglandyn, tłumaczącym właściwości przeciwzapalne tego leku. Aspiryna podana dożylnie acetyluje COX-2 w obrębie komórek śródbłonna i w krążących leukocytach, co uruchamia syntezę 15-epi LXA₄, która z kolei zwiększa aktywność zarówno eNOS, jak i iNOS. Wytworzony NO w małej ilości (głównie poprzez eNOS) aktywuje czynnik transkrypcyjny NF κ B, podczas gdy znaczne ilości NO powstałe pod wpływem iNOS hamują ten czynnik. Tlenek azotu wpływa głównie na interakcję leukocytów z komórkami śródbłonna. Podanie inhibitorów aktywności COX-2 lub użycie antagonisty receptora dla lipoksyn hamowało syntezę NO indukowaną przez ASA [12].

Cyklooksygenaza 2 acetylowana przez ASA może także wykorzystywać jako substraty inne niż kwas arachidonowy kwasy wielonienasycone. Jeśli substratem jest kwas eikozapentaenowy (EPA) lub dokozaheksaenowy (DHA), to w ciągu reakcji, przy udziale m.in. 5-LOX, powstają rezolwiny serii E i D (odpowiednio dla EPA i DHA). Są to metabolity odpowiedzialne za katalazę, czyli proces tłumienia (wygaszania – *resolution*) stanu zapalnego. Zmniejszają one ekspresję cytokin prozapalnych i hamują migrację neutrofilów do miejsca zapalenia. Rezolwiny powstają w końcowej fazie stanu zapalnego i odpowiadają za jego wytłumienie. W niektórych układach doświadczalnych ich działanie przeciwzapalne było silniejsze nie tylko od działania aspiryny, ale nawet deksametazonu. W zdrowym, nieobjętym procesem zapalnym organizmie, biosynteza rezolwin (stężenie w osoczu 0,1–0,4 ng/ml) następuje po spożyciu 160 mg ASA, 1 g EPA i 0,7 g DHA [13].

Efekty niezależne od COX i LOX

Tworzenie trombiny

Wpływ ASA na proces syntezy trombiny został opisany w 1987 r. na podstawie modelu mikrouszkodzeń ściany naczyniowej [13]. Po uszkodzeniu śródbłonna ściany naczyniowej, czynnik VIIa opuszcza układ krążenia i tworzy kompleks z czynnikiem tkankowym TF (*tissue factor*) znajdującym się na powierzchni fibroblastów i leukocytów. Kompleks TF-VIIa aktywuje czynniki IX i X. Aktywny czynnik Xa stymuluje przemianę niewielkiej ilości protrombiny do trombiny, co w dalszym etapie zwielokrotnia syntezę tej substancji przez zaktywowane płytki krwi i czynnik Va. Proces aktywacji czynnika X do Xa przez kompleks TF-VIIa jest szybko hamowany przez TFPI (*tissue factor pathway inhibitor*). Kwas acetylosalicylowy podawany zarówno w minimalnej dawce 30 mg na dobę (jak i większych – 75 mg i 300 mg) zmniejszał syntezę trombiny w miejscu mikrouszkodzenia [14,15]. Efekt inhibicji syntezy trombiny zaobserwowano także po podaniu pojedynczej dawki 500 mg ASA poprzedzonej 7- lub 90-dniową terapią [16]. Zmniejszenie syntezy trombiny zaobserwowano tak u osób zdrowych, jak i z chorobami naczyń wieńcowych [14,17].

Podawanie 75 mg aspiryny przez 7 dni spowodowało zmniejszenie syntezy protrombiny (o 29%), trombiny (o 27%) i czynnika krzepnięcia Va (o 25%). Mechanizm wpływu aspiryny na zmniejszenie produkcji trombiny może wynikać z osłabionej reaktywności płytek, spadku ekspresji czynnika tkankowego TF w ludzkich monocytach i blaszkach miażdżycowych, a także ze zwiększenia ilości inhibitora TFPI [19]. W działaniach tych może pośredniczyć inhibicja kinazy β I κ B (*inhibitor of kappa B kinase*). Wydaje się, że podwyższone stężenie cholesterolu może osłabiać wpływ ASA na spadek produkcji trombiny w miejscu mikrouszkodzenia naczyniowego.

Działanie aspiryny w dawce 300 mg dziennie związane z wydłużeniem czasu krzepnięcia i spadkiem produkcji trombiny obserwowano jedynie u pacjentów ze stężeniem całkowitego cholesterolu poniżej 240 mg/dl i stężeniem cholesterolu frakcji LDL poniżej 155 mg/dl [19].

Niskie dawki ASA nie wpływały na obniżenie syntezy trombiny u osób ze stężeniem cholesterolu całkowitego powyżej 250 mg/dl. Długotrwałe skojarzone leczenie chorych za pomocą ASA i simwastatyny obniżającej stężenie cholesterolu prowadziło ponownie do spadku syntezy trombiny u pacjentów. Efekt ten potwierdza działanie przeciwzakrzepowe statyn, jak również sugeruje synergizm działania statyn i ASA w zakresie inhibicji syntezy trombiny [20].

Cząsteczki glikoprotein

Dodatkowym czynnikiem modyfikującym zależną od aspiryny produkcję protrombiny jest polimorfizm w genie integryny $\beta 3$, nazywany PI^{A1A2} . Allelem PI^{A2} określono substytucję nukleotydową w eksonie 2 genu kodującego integrynę $\beta 3$ prowadzącą do zamiany Leu33Pro. Polimorfizm ten obejmuje około 20% populacji i wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zakrzepów wieńcowych i nasiloną reaktywnością płytek krwi [21]. Nosiciele allelu PI^{A2} wykazywali większą zdolność do tworzenia trombiny, a podanie 300 mg ASA w znacznie mniejszym stopniu wydłużyło czas krzepnięcia u nosicieli tego allelu w stosunku do homozygot PI^{A1} [22]. Dokładny mechanizm wpływu ASA na $\beta 3$ integrynę nie jest znany. Większość prac dotyczy zdolności ASA do acetylacji cząsteczek glikoprotein GPIIb/GPIIIa obecnych na płytkach krwi z uwagi na ich kluczową rolę w procesie agregacji [23].

Wpływ na czynniki transkrypcyjne

Aspiryna ma krótki czas półtrwania w organizmie człowieka i szybko podlega deacetylacji do kwasu salicylowego, mającego znaczny wpływ na kontrolę ekspresji wielu genów. Od dawna na podstawie testów *in vitro* wiadomo o zdolności salicylanów do hamowania wiązania czynnika transkrypcyjnego NF κ B do regionów promotorowych genów czynników prozapalnych. Salicylany hamują aktywność kinazy I κ B, co zabiega dysocjacji kompleksu NF κ B i I κ B w cytoplazmie i uniemożliwia wniknięcie czynnika NF κ B do jądra komórkowego, co w konsekwencji hamuje transkrypcję genów prozapalnych. Mechanizm inhibicji NF κ B występuje jednak przy skrajnie wysokim, trudnym do osiągnięcia w warunkach *in vivo* stężeniu aspiryny równym około 10 mM. Wu i wsp. zaproponowali inny mechanizm wpływu aspiryny i salicylanów w stężeniach terapeutycznych (10^{-4} – 10^{-6} M). Salicylan sodu w stężeniu 10^{-5} M hamuje aktywność regionu promotorowego genu COX-2, wiążąc się z sekwencją CCAAT, wchodzącą w skład elementu C/EBP β (*enhancer binding protein* β). W efekcie następuje spadek ekspresji genu iNOS i wielu genów cytokin prozapalnych (IL-6 i IFN γ) o około 50% [24]. Inhibicja regionu promotorowego C/EBP β przez salicylany wynika z ich zdolności do hamowania kinazy S6 białka rybosomowego p90 (RSK). Zahamowana kinaza nie fosforyluje reszty tyrozynowej w pozycji 266, co uniemożliwia aktywację regionu promotorowego C/EBP β [25].

ASA jako antyoksydant

Kwas acetylosalicylowy chroni cząsteczki cholesterolu frakcji LDL przed modyfikacją oksydacyjną pro-

wadzącą do powstania cząsteczek oxLDL biorących udział w tworzeniu blaszki miażdżycowej. Efekty te mogą mieć związek z działaniem kwasu acetylosalicylowego jako przeciwutleniacza, który bezpośrednio usuwa rodniki hydroksylowe, tworząc pochodne 2,3- i 2,5-dihydroksybenzoesowe. ASA może także acetylować grupy ϵ -aminowe lizyny białek, chroniąc je przed utlenieniem, co może mieć szczególne znaczenie w przypadku fibrynogenu. Procesy oksydacyjne nasilają bowiem tworzenie fibryny, podczas gdy acetylacja reszt lizyny sprzyja procesom fibrylizacji. Wypadkowy efekt wpływu ASA na równowagę tworzenia i lizy fibrynogenu tłumaczyłby zmniejszoną odpowiedź zapalną u chorych z chorobą wieńcową [26,27].

Acetylacja białek osocza

Mechanizm działania ASA prowadzący do zmniejszenia tworzenia trombiny wciąż nie jest zrozumiały, jednak większość hipotez wiąże ten efekt farmakologiczny z wpływem na acetylację białek. Sugeruje się znaczenie acetylacji przez ASA zarówno protrombiny, jak i antytrombiny. Wysoka dawka ASA (650 mg co 12 godzin) prowadzi do acetylacji fibrynogenu tak w testach *in vitro*, jak i *in vivo* [28]. Modyfikacja ta zmienia strukturę białka i właściwości tworzonego skrzepu. Kwas acetylosalicylowy zwiększa przepuszczalność tworzonego skrzepu oraz powoduje wzrost porowatości i stosunku masy do długości włókien fibryny o 65% [29]. Przerwanie podawania ASA przywracało wytrzymałość i przepuszczalność sieciowania fibryny do fizjologicznych wartości dopiero po 7 dniach [30,31].

Istnieją sprzeczne doniesienia dotyczące wpływu ASA na proces fibrylizacji [32]. Wysokie dawki ASA (650 mg co 12 godzin) u zdrowych osób prowadziły do nasilonej fibrylizacji. Stwierdzono odwrotną korelację między stopniem usieciowania fibrynogenu a czasem lizy skrzepu w testach *in vitro*. Wysokie dawki leku nie wpływały na ekspresję tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA), ale obniżały jego aktywność w miejscu okluzji naczyniowej. Niektóre badania sugerują także zdolność ASA do aktywacji plazminy, niemniej jednak wpływ konwencjonalnych dawek tego leku na zmiany procesu fibrylizacji nie jest znany [33].

Inne efekty działania ASA

Bardzo wysokie dawki ASA (powyżej 1,5 g na dobę) antagonizują działanie witaminy K. Nie jest jasne, czy działanie takie występuje przy stosowaniu dawek terapeutycznych leku [34]. Ponadto podkreśla się zdolność ASA do działania jako inhibitor białka TFPI. Białko to moduluje zależny od czynnika tkankowego proces agregacji płytek poprzez wiązanie w kompleks czynnika Xa i VIIa oraz pełni funkcję

zasadniczego regulatora procesu inicjacji tworzenia trombiny. Około 10% TFPI jest uwalnianie z płytek, a zdolność do acetylacji TFPI przez ASA uważana jest za prawdopodobny mechanizm obserwowanego działania [35].

Oporność na działanie aspiryny

Termin aspirynooporność (*aspirin resistance*) opisuje kliniczną sytuację braku inhibicji agregacji płytek, braku supresji produkcji TXA₂ i przedłużenia czasu krzepnięcia po podaniu aspiryny. Częstość tego zjawiska w grupie osób z przebyłym zawałem mięśnia sercowego i chorobą wieńcową szacuje się, w zależności od zastosowanej metody pomiaru, na 5–15% [36]. Przyczyny aspirynooporności mają różnorodne mechanizmy związane z postacią farmaceutyczną samej aspiryny (przyjęcie zbyt małej dawki, zła absorpcja leku z przewodu pokarmowego, zwłaszcza przy zastosowaniu tabletek dojelitowych), wpływem innych leków (nasilona hydroliza aspiryny przez esterazy po przyjęciu inhibitorów pompy protonowej, równoczesne przyjmowanie innych NLPZ, zwłaszcza ibuprofenu, który konkuruje o wiązanie z centrum aktywnym COX-1), wpływem używek lub zaburzonego profilu lipidowego (palenie tytoniu, wysoka hipercholesterolemia) bądź nagłym wzrostem liczby nowotworzonych płytek o dużej ekspresji genów COX-1 i COX-2 (u pacjentów po świeżo przebyłym zabiegu pomostowania naczyń wieńcowych) [37,38]. Zmniejszona odpowiedź chorego na działanie ASA może ponadto wynikać z aktywacji w płytkach krwi alternatywnych szlaków metabolicznych, zwiększonej reaktywności płytek pod wpływem trombiny i ADP, wzrostu ekspresji COX-2 w monocytach i makrofagach prowadzącej do syntezy TXA₂, nieenzymatycznej peroksydacji lipidów u palaczy nikotyny, pacjen-

tów z cukrzycą i osób z hipercholesterolemią, prowadzącej do syntezy izoprostanów nasilających odpowiedź płytek na działanie agonistów, wzrostu ekspresji izoformy COX-2a u pacjentów po przebyłym zabiegu pomostowania naczyń wieńcowych. Wpływ na osłabione działanie ASA mają też polimorfizmy genów odpowiedzialnych za metabolizm prostanoidów (polimorfizmy w genach COX-1, COX-2 i syntazie TXA₂ prowadzące do wzrostu syntezy TXA₂, polimorfizmy w płytkowych glikoproteinach GPIa/IIa lub β3 integrynie, receptory dla ADP lub białkach biorących udział w kaskadzie krzepnięcia – czynnika XIII) [39]. Opisano także zjawisko tachyfilaksji dla aspiryny [40,41].

PODSUMOWANIE

Poznanie nowych szlaków sygnałowych związanych z mechanizmem działania farmakologicznego ASA stawia nowe pytania dotyczące oddziaływania poszczególnych związków endogennych na różne fazy zapalenia. Obecnie mechanizm działania przeciwzapalnego ASA tłumaczy zahamowanie syntezy prostaglandyn, stymulowanie syntezy lipoksyn i epimerycznych lipoksyn oraz indukcja syntezy NO.

Poznanie podstaw molekularnych działania farmakologicznego ASA pozwoliło zrozumieć wpływ podawanych równocześnie inhibitorów COX-2 czy też ibuprofenu na zniesienie części efektu przeciwzapalnego aspiryny. Wykrycie zdolności ASA do pobudzania produkcji NO w organizmie zaowocowało badaniami klinicznymi nowych NLPZ uwalniających NO, o mniejszych działaniach niepożądanych dotyczących błony śluzowej żołądka [42].

PIŚMIENNICTWO

- Coccheri S. Antiplatelet drugs – do we need new options? With a reappraisal of direct thromboxane inhibitors. *Drugs* 2010; 70: 887–908.
- Vane J. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature* 1971; 231: 232–235.
- Botting R. Vane's discovery of the mechanism of action of aspirin changed our understanding of its clinical pharmacology. *Pharmacol. Rep.* 2010; 62: 518–525.
- Rao P., Knaus E. Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 2008; 11: 81–110.
- Simmons D., Botting R., Hla T. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol. Rev.* 2004; 56: 387–437.
- Awtry E., Loscalzo J. Aspirin. *Circulation* 2000; 101: 1206–1218.
- Chandrasekharan N., Dai H., Ross K.L. i wsp. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure and expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002; 99: 13926–13931.
- Serhan C. Lipoxin biosynthesis and its impact in inflammatory and vascular events. *Biochim. Biophys. Acta* 1994; 14: 1–25.
- Claria J., Serhan C.N. Aspirin triggers previously undescribed bioactive eicosanoids by human endothelial cell-leukocyte interactions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995; 10: 9475–9482.
- Serhan C.N., Chiang C. Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators: a new pharmacologic genus. *Br. J. Pharm.* 2008; 153: 200–215.
- Gilroy D. New insight into the anti-inflammatory action of aspirin – induction of nitric oxide through the generation of epi-lipoxins. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2005; 100: 49–54.
- Ariel A., Li P.L., Wang W. i wsp. The docosatriene protectin D1 is produced by TH₂ skewing and promotes human T cell apoptosis via lipid raft clustering. *J. Biol. Chem.* 2005; 280: 43079–43086.
- Kyrle P., Westwick J., Seully M.F., Kakkar W., Lewis G.P. Investigation of the interaction of blood platelets with the coagulation system at the site of plug formation *ex vivo* in man: effect of low-dose aspirin. *Thromb. Haemost.* 1987; 57: 62–69.
- Undas A., Brzezińska-Kolarz B., Orfeo T. i wsp. Blood coagulation at the site of microvascular injury: effects of low-dose aspirin. *Blood* 2001; 98: 2423–2431.
- Undas A., Undas R., Musiał J., Szczeklik A. A low dose of aspirin (75 mg/day) lowers thrombin generation to a similar extent as a high dose of aspirin (300 mg/day). *Bllog. Coagul. Fibrinolysis* 2000; 11: 231–234.

16. Hampton K., Cerletti C., Loizon L.A. i wsp. Coagulation, fibrinolytic and platelet function in patients in long-term therapy with 300 mg or 1200 mg daily compared with placebo. *Thromb. Haemost.* 1990; 64: 17–24.
17. Musiał J., Undas A., Undas R., Brozek J., Szczeklik A. Treatment with simvastatin and low-dose aspirin depresses thrombin generation in patients with coronary heart disease and borderline-high cholesterol levels. *Thromb. Haemost.* 2001; 85: 221–225.
18. Butenas S., van't Veer C., Mann K. Evaluation of the initiation phase of blood coagulation using ultrasensitive assays for serine protease. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 527–533.
19. Osnes L.T., Foss K.B., Joo G.B. i wsp. Acetylsalicylic acid and sodium salicylate inhibit LPS-induced NF- κ B/c-Rel nuclear translocation, and synthesis of tissue factor (TF) and tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) in human monocytes. *Thromb. Haemost.* 1996; 76: 970–976.
20. Matetzky S., Tani S., Kangawari S. i wsp. Smoking increases tissue factor expression in atherosclerotic plaques: implications for thrombogenicity. *Circulation* 2000; 102: 602–604.
21. Zhu M., Weddon J., Clark L. Meta-analysis of the association of platelet IIIa PIA1/A2 polymorphism with myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* 2000; 86: 1000–1005.
22. Szczeklik A., Undas A., Sandak M., Frolow M., Węgrzyn W. Relationship between bleeding time, aspirin and PIA1/A2 of platelet glycoprotein IIIa. *Br. J. Haematol.* 2000; 110: 965–967.
23. Dominguez-Jimenez C., Diaz-Gonzalez F., Gonzalez-Alvarol I., Cesar J.M., Sanchez-Madrid F. Prevention of α IIb β ₃ activation by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *FEBS Lett* 1999; 446: 318–322.
24. Wu K. Novel mechanism of aspirin pharmacologic actions: A model for studying herbal natural products. *Thromb. Res.* 2005; 117: 61–64.
25. Kast R. Aspirin, TNF-alpha, NF κ B, and survival in multiple myeloma: the importance of measuring TNF-alpha. *Inflammopharmacology* 2006; 14: 256–259.
26. Ghiselli A., Laurenti O., De Mattia G., Maiani G., Ferro-Luzzi A. Salicylate hydroxylation as an early marker of in vivo oxidative stress in diabetic patients. *Free Radic. Biol. Med.* 1992; 13: 621–626.
27. Coudray C., Favier A. Determination of salicylate hydroxylation products as an in vivo oxidative stress marker. *Free Radic. Biol. Med.* 2000; 29: 1064–1070.
28. Pinckard R., Hawkins D., Farr R. In vitro acetylation of plasma protein, enzymes and DNA by aspirin. *Nature* 1968; 219: 68–69.
29. Williams S., Fatah K., Hjemdahl P., Blomback M. Better increase in fibrin gel porosity by low-dose than intermediate dose acetylsalicylic acid. *Eur. Heart J.* 1998; 19: 1666–1672.
30. Fatah K., Beving H., Albage A., Ivert T., Blombäck M. Acetylsalicylic acid may protect the patient by increasing fibrin gel porosity. Is withdrawing of treatment harmful to the patient? *Eur. Heart J.* 1996; 17: 1362–1366.
31. He S., Blombäck M., Yoo G., Sinha R., Henschen-Edman A.H. Modified clotting properties of fibrinogen in the presence of acetylsalicylic acid in a purified system. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2001; 936: 531–535.
32. Bounameaux H., Gesele P., Hanss M., DeCock F., Vermeylen J., Collen D. Aspirin, indomethacin and dazoxiben do not affect of fibrinolytic activation induced by venous occlusion. *Thromb. Res.* 1985; 40: 161–170.
33. Geppert A., Graf S., Beckmann R. i wsp. Concentration of endogenous tPA antigen in coronary artery disease: relation to thrombotic events, aspirin treatment, hyperlipidemia, and multivessel disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998; 18: 1634–1642.
34. Loew D., Vinazzer H. Dose-dependent influence of acetylsalicylic acid on platelet functions and plasmatic coagulation factors. *Haemostasis* 1976; 5: 239–249.
35. Ragni M. Endogenous tissue factor pathway inhibitor modulates thrombus formation in an in vivo model of rabbit carotid artery stenosis and endothelial injury. *Circulation* 2000; 102: 113–117.
36. Ozben S., Ozben B., Tanrikulu A., Ozer F., Ozben T. Aspirin resistance in patients with acute ischemic stroke. *J. Neurol.* 2011; 258: 1979–1986.
37. Campbell C., Steinhubl S. Variability in response to aspirin: do we understand the clinical relevance? *J. Thromb. Haemost.* 2005; 3: 665–669.
38. Mason P., Jacobs A., Freedman J. Aspirin resistance and atherothrombotic disease. *J Am Coll. Cardiol.* 2005; 46: 986–993.
39. Maree A., Curtin R., Chubb A. i wsp. Cyclooxygenase-1 haplotype modulates platelet response to aspirin. *J. Thromb. Haemost.* 2005; 10: 2340–2345.
40. Sanderson S., Emery J., Baglin T., Kimmonth A.L. Narrative review: aspirin resistance and its clinical implications. *Ann. Intern. Med.* 2005; 142: 370–380.
41. Undas A., Brummel-Ziedins K., Mann G. Antithrombotic properties of aspirin and resistance to aspirin: beyond strictly antiplatelet actions. *Blood* 2007; 109: 2285–2292.
42. Brzozowski T., Konturek P., Pajdo R. i wsp. Physiological mediators in nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) – induced impairment of gastric mucosal defense and adaptation. Focus on nitric oxide and lipoxins. *J. Physiol. Pharmacol.* 2008; 59: 89–102.