

Bogusława Więclawska, Cezary Watała

**MODULACJA AKTYWACJI PŁYTEK KRWI
– ANTAGONIŚCI RECEPTORA TROMBOKSANU
I MODULATORY RECEPTORÓW EIKOZANOIDOWYCH**

Przez wiele lat aspiryna była jedynym stosowanym w praktyce klinicznej lekiem przeciwplatekciowym. Jej użyteczność doceniano zwłaszcza w przypadkach zakrzepicy tętniczej, głównie dlatego, że zasadniczy zrab struktury zakrzepów tętniczych stanowią czopy platekowe. Choć przez dziesięciolecia aspiryna oddawała nieocenione usługi w zwalczaniu zależnych od platek krwi zatorowości naczyń, zawsze była ona uważana za lek o stosunkowo słabym działaniu i ograniczonej efektywności. W ostatnich latach zaznacza się rosnące zainteresowanie alternatywnymi strategiami farmakologii przeciwplatekowej, z których najbardziej obiecujące obejmują inhibitory adhezji platek, inhibitory metabolizmu kwasu arachidonowego oraz inhibitory interakcji receptorów platekowych z agonistami. Do tej ostatniej grupy należą na przykład antytrombiny, antagoniści receptora dla fibrynogenu, antagoniści receptora dla tromboksanu A_2 oraz blokery purynoreceptorów, takie jak clopidogrel lub tiklopidyna. Uważa się, że jedynie antagoniści receptorów platekowych mają szansę zapewnić rozległą i pełną inhibicję aktywacji platek, ich adhezji i agregacji, ponieważ blokują najbardziej wstępne fazy transdukcji sygnału w platekach po związaniu ligandów przez ich receptory.

Niniejsza praca omawia molekularne mechanizmy oraz potencjalne znaczenie kliniczne związków pełniących funkcje antagonistów platekowych receptorów dla tromboksanu oraz działanie wybranych analogów eikozanoidowych modulujących aktywację platek krwi.

**BIOLOGICZNE ZNACZENIE TROMBOKSANU A_2
ORAZ JEGO RECEPTORA**

Metabolity kwasu arachidonowego (AA), takie jak np. tromboksan A_2 (TxA_2) czy prostaglandyna H_2 (PGH_2), są potencjalnymi substancjami aktywującymi plateki krwi, prowadzącymi do ich agregacji i zwężającymi naczynia krwionośne. Metabolizm AA jest aktywowany, w mniej lub bardziej zaznaczony sposób, w wyniku stymulacji platek niemal wszystkimi

fizjologicznymi agonistami. Stąd też, TxA_2 i PGH_2 reprezentują ważne systemy amplifikacyjne aktywacji płytek w odpowiedzi na stymulację. TxA_2 oddziałuje na płytki poprzez wiązanie się do specyficznego receptora, powodując aktywację fosfolipazy C (PLC), wzrost wewnątrzkomórkowego poziomu wapnia i aktywację białkowej kinazy C [1, 10, 11, 15]. Stosunkowo niedawno udało się dokładniej poznać niektóre molekularne mechanizmy działania tromboksanu oraz jego rolę w transdukcji sygnału w płytkach krwi. Substratem dla fosfolipazy C jest fosfatydyloinozytolo(4,5)bifosforan (PIP_2), a produktami reakcji hydrolizy są inozytolo(1,4,5)trójfosforan (IP_3) oraz diacyloglicerol (DAG). Pierwszy ze związków odpowiada za uwalnianie wapnia z ziarnistości wewnątrzkomórkowych, drugi aktywuje kinazę białkową C. Fosfolipaza C może być bezpośrednio aktywowana przez białka G, takie jak np. G_i czy G_q , których cechą charakterystyczną jest jednoczesna aktywacja fosfolipazy C_i za pośrednictwem kompleksu α -GTP oraz aktywacja fosfolipazy A_2 przy udziale kompleksu $\beta\gamma$ [4]. Rosnące stężenie jonów wapnia w cytoplazmie płytek wpływa aktywująco na fosfolipazę A_2 , której działanie sprowadza się do uwalniania z fosfolipidów błon kwasu arachidonowego, dalej przetwarzanego do tromboksanu A_2 [3]. Łatwo zauważyć, że uwalnianie wapnia, za które odpowiada fosfolipaza C, prowadzi do aktywacji fosfolipazy A_2 , zatem pierwszy z enzymów pełni kluczową funkcję w ciągu wydarzeń prowadzących do aktywacji płytek krwi. Z drugiej strony, ten kluczowy enzym – fosfolipaza C – jest aktywowany na drodze dodatniego sprzężenia zwrotnego przez produkty reakcji zainicjowanej przez działanie fosfolipazy A_2 . Niemal wszystkie naturalnie występujące aktywatory płytek krwi prowadzą do wzrostu stężenia wapnia wewnątrzkomórkowego, co niesie ze sobą dodatkowe fizjologiczne konsekwencje, których znaczenie w procesie aktywacji trudno przecenić. Wahania stężenia cytoplazmatycznego wapnia prowadzą do aktywacji kinazy lekkiego łańcucha miozyny zależnej od kalmoduliny, a w następstwie, do fosforylacji miozyny i zmian kształtu płytek. Doświadczenia wskazują, że pośrednictwo fosfolipazy C w uwalnianiu wewnątrzkomórkowego wapnia potęguje wpływ uwalniania na kurczenie i zmiany kształtu płytek. Stwierdzono, że jeden z produktów hydrolizy fosfolipazy C, IP_3 , wywołuje otwieranie kanałów wapniowych, a tym samym decyduje o uwalnianiu jonów wapniowych z ziarnistości wewnątrzplątkowych. Rosnące stężenia jonów wapnia działają aktywująco na fosfolipazę A_2 , hydrolizującą wiązania estrowe między nienasyconymi kwasami tłuszczowymi a glicerolem. Uwolniony w ten sposób kwas arachidonowy jest następnie przekształcany z udziałem syntazy tromboksanu do tromboksanu A_2 , który silnie aktywuje płytki krwi. W ten sposób raz uruchomiona reakcja hydrolizy może działać jako samosterujący się i samonapędzający proces wiodący do coraz silniejszej aktywacji płytek krwi,

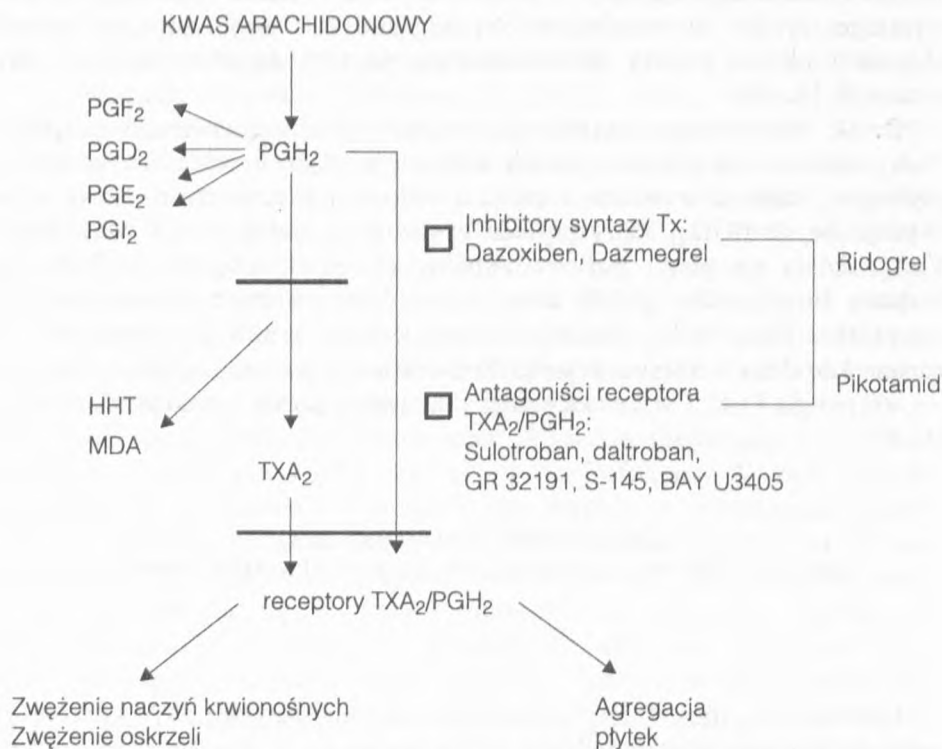
ich grupowania się, agregacji, i w konsekwencji tworzenia zakrzepu. Z powyższego wynika, że tromboksan A_2 odgrywa rolę swoistego „zapalnika” aktywacji płytek, między innymi dlatego, że sam napędza swoją własną generację [3, 10].

Dzięki zastosowaniu ligandów o wysokim powinowactwie do receptora TxA_2 stwierdzono istnienie dwóch różnych podtypów receptora w błonie płytkowej, jeden o wysokim i drugi o niskim powinowactwie do ligandu. Wydaje się, że PGH_2 , który posiada większość z biologicznych właściwości TxA_2 , działa na płytki poprzez wspólny receptor TxA_2/PGH_2 . Również badania funkcjonalne płytek krwi potwierdziły obecność dwóch różnych receptorów TxA_2/PGH_2 . Funkcjonowanie jednego z nich jest powiązane ze zmianą kształtu i wzrostem wewnątrzkomórkowego poziomu wapnia, drugiego – z aktywacją PLC, i w konsekwencji z agregacją płytek i reakcją uwalniania [3, 19].

ANTAGONIŚCI RECEPTORA TxA_2 ORAZ INHIBITORY METABOLIZMU KWASU ARACHIDONOWEGO

Inhibitory syntazy TxA_2 selektywnie hamują tworzenie TxA_2 (rys. 1) poprzez reorientację metabolizmu AA w płytkach. Wykazano w badaniach *in vitro* oraz *in vivo*, że pod wpływem stosowania inhibitorów syntazy tromboksanu wzrasta w płytkach synteza prostaglandyn, włączając prostacykliny. Ponadto, w płytkach, inhibitory syntazy TxA_2 prowadzą do akumulacji prostaglandyny H_2 (PGH_2), której biologiczne efekty podobne są do tych, jakie wywiera TxA_2 podczas oddziaływania na receptory TxA_2/PGH_2 . Okazało się, na przykład, że w płytkach przemylanych inhibitor syntazy tromboksanu, dazoxiben, nie ograniczał agregacji płytek. Podstawowym ograniczeniem dla tej klasy leków jest, że także nadtlenki prostaglandynowe są potencjalnymi stymulatorami aktywacji płytek. Wobec powyższego można zasugerować, że jedynie łączne stosowanie inhibitorów syntazy TxA_2 z antagonistami receptora TxA_2/PGH_2 , które blokują zarówno efekty działania TxA_2 jak i PGH_2 , mogłoby prowadzić do skuteczniejszego działania przeciwpłytkowego [1, 7, 11].

Antagoniści receptora TxA_2 specyficznie znoszą działanie tromboksanu A_2 i cyklicznych nadtlenków prostaglandynowych na ich wspólny receptor na powierzchni płytek krwi oraz zapobiegają zwężeniu naczyń krwionośnych indukowanemu tromboksanem. Chociaż antagoniści receptora tromboksanu wydłużają czas krwawienia silniej niż inhibitory syntazy tromboksanu, nie wykazują one wpływu na wytwarzanie tromboksanu i prostacyklin [18].



Rys. 1. Kaskada kwasu arachidonowego i miejsca działania inhibitorów syntazy TxA_2 oraz antagonistów receptora $\text{TXA}_2/\text{PGH}_2$. TxA_2 , tromboksan A_2 , PGH_2 prostaglandyny H_2 , HHT, kwas 12-hydroksoheptadekatrienowy, MDA, dialdehyd malonowy (wg [7])

Antagoniści receptora $\text{TxA}_2/\text{PGH}_2$ są kompetycyjnymi ligandami i wiele z nich, jak sultroban lub SQ 29.548, kompetycyjnie hamuje agregację płytek krwi. Mechanizm ich działania polega na „odczulaniu” płytek na działanie agonistów. Przy wysokich stężeniach antagonisty receptora tromboksanu, jedynie dostatecznie wysokie stężenia agonisty mogą prowadzić do pełnej odpowiedzi płytek krwi. Z drugiej strony, w takich warunkach jedynie skrajnie wysokie stężenia antagonisty w osoczu mogą zapewnić wydajną blokadę receptora [7, 13]. Niektóre z blokerów receptora $\text{TxA}_2/\text{PGH}_2$ prowadzą do niekompetycyjnej inhibicji płytek, co jest spowodowane różną szybkością reakcji prowadzących do aktywacji płytek oraz wypieraniem cząsteczek antagonisty przez agonistę z receptorów płytkowych. Aktywacja płytek wymaga szybkiego wiązania się agonisty do jego receptora, czego następstwem jest równie szybka zmiana kształtu, agregacja i odpowiedź sekrecyjna. Jeśli stężenie agonisty rośnie powoli (np. na skutek zastosowania niskich stężeń agonisty lub kiedy komórki były inkubowane z niskim

stężeniem agonisty przed drugą stymulacją), płytki mogą pozostawać niewrażliwe nawet na wysokie stężenia agonisty. W konsekwencji cząsteczki agonistów, których populacja jest zrównoważona pulą antagonistów okupujących receptor, działają tak wolno, że nie mogą indukować aktywacji płytek. Właściwość ta przyczynia się do zwielokrotnienia siły i czasu trwania efektów blokowania receptora. Dlatego też szybkość dysocjacji kompleksu antagonist-receptor oraz powinowactwo wiązania z receptorem są istotnymi parametrami efektywności blokerów receptora [7]. Parametry te warunkują czas działania i skuteczność blokowania receptora przez różne związki będące jego antagonistami: niektóre z nich, jak daltroban, działają krótko i słabo blokują receptor tromboksanu, inne – takie jak vapiprost, ifetroban czy BAY-U3405 są silnymi blokerami receptora TxA_2 z długim czasem działania [13, 18].

W badaniach z wykorzystaniem modelu zwierzęcego zakrzepicy tętnicy udowej indukowanej fotochemicznie (szczury i świnki morskie) stwierdzono inhibujący wpływ działania antagonisty receptora TxA_2 , vapiprostu, na tworzenie zakrzepu i agregację płytek indukowaną kolagenem lub związku U46619 (stabilny mimetyk tromboksanu). Ponadto, równoległe stosowanie tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA) i vapiprostu prowadziło do zahamowania reokluzji po udanej reperfuzji oraz do udroźnienia naczynia w wyniku stosowania terapii trombolitycznej [16]. Badania kliniczne vapiprostu i daltrobanu wykazały ich wyższą skuteczność w porównaniu z inhibitorami syntazy tromboksanu. Kliniczne wskazania do stosowania tych leków to m. in. angioplastyka naczyń wieńcowych, przypadki reokluzji w następstwie terapii trombolitycznej po zawale mięśnia sercowego, niestabilna dusznica, choroby naczyń obwodowych i choroby układu oddechowego (astma) [14].

Uważa się, że komplikacje zakrzepowo-zatorowe leżą u podstaw patogenezy niedokrwiennej udaru mózgu. Na podstawie wyników licznych badań przedklinicznych wykazano, że stosowanie antagonistów receptora tromboksanu A_2 odnosi pozytywny skutek w leczeniu różnego rodzaju chorób naczyniowo-mózgowych. Bay-U3405 [kwas (3R)-3-(4-fluorofenylosulfonamido)-1,2,3,4-tetrahydro-9-karbazolopropanowy] jest kompetycyjnym antagonistą receptora TxA_2 i wiąże się odwracalnie i selektywnie do tegoż receptora w izolowanych błonach ludzkich płytek krwi [8]. Bay-U3405 silnie inhibuje agregację płytek, zapobiega zwięzaniu naczyń krwionośnych, zwięzaniu oskrzeli i spowalnia rozwój zakrzepicy tętniczej. Jak wykazały liczne badania przedkliniczne nad skutecznością Bay-U3405 w prewencji chorób sercowo-naczyniowych i mózgowo-naczyniowych, zaletami tego obiecującego antagonisty receptora TxA_2 są jego selektywność, aktywność preparatu po podaniu doustnym, wysokie powinowactwo wiązania do receptora i odpowiednio długi czas działania [8, 14].

Mechanizm tworzenia zakrzepu, od strony udziału i roli płytek krwi, jest zróżnicowany, w zależności od występowania wysokich lub niskich sił ścinających w krwiobiegu. Wykazano, że u szczurów aktywacja receptorów tromboksanu odgrywała ważną rolę w tworzeniu zakrzepów tętniczych, zarówno w przypadku wysokich, jak i niskich sił ścinających, podczas gdy receptory 5-hydroksytryptaminy typu 5-HT_{2A/C} odgrywały główną rolę w powstawaniu zakrzepu jedynie w warunkach działania wysokich sił ścinających. W zwierzęcym modelu okluzji naczyń wykazano, że antagonist receptoru tromboksanu, SQ 29.548, w zależności od dawki hamował tworzenie zakrzepu tętniczego, zarówno w przypadku wysokich, jak i niskich sił ścinających [17]. Chociaż antagoniści receptorów 5-HT_{2A/C} i receptorów tromboksanu wykazali wydajność w hamowaniu tworzenia zakrzepów zarówno w warunkach niskich, jak i wysokich sił ścinających, uważa się powszechnie, że względna fizjologiczna i patofizjologiczna istotność tych mechanizmów jest umiarkowana w porównaniu ze znaczeniem i potencjalną kliniczną użytecznością stosowania antagonistów GPIIb/IIIa [17].

Ridogrel, pikotamid czy R68070 należą do czynników antypłytkowych o podwójnym działaniu: wywołują one zarówno inhibicję syntazy tromboksanu, jak i blokowanie receptora TxA₂/PGH₂.

R68070 jest kompetycyjnym antagonistą receptora TxA₂, a także hamuje tworzenie TxB₂ działając w niższych stężeniach na syntetazę tromboksanu A₂. Lek ten nie wykazuje wpływu na podstawowy poziom cAMP w płytkach, należy zatem wykluczyć jego działanie na cyklazę adenylową czy fosfodiesterazę cAMP. Kompetycyjny mechanizm blokady receptora tromboksanu przez R68070 może tłumaczyć jego słabsze działanie na agregację płytek w warunkach *in vitro* w porównaniu z aspiryną, ale fakt przedłużania czasu krzepnięcia w porównaniu z wartościami tego parametru u ludzi stosujących aspirynę stanowi o zainteresowaniu lekiem jako modulatorem mechanizmów hemostatycznych *in vivo* [5].

Działanie przeciwpłytkowe pikotamidu (G137) sprowadza się do hamowania agregacji płytek, inhibicji uwalniania ATP, zmniejszonej generacji tromboksanu B₂ i obniżonego tworzenia MDA podczas odpowiedzi płytek na stymulację agonistami działającymi poprzez wytwarzanie TxA₂ (kolagen, AA, TxA₂). W odpowiedzi na ADP pikotamid hamuje jedynie uwalnianie ATP i tworzenie TxB₂, pozostając bez wpływu na agregację płytek. Wykazano, że lek ten może obniżać stężenie wewnątrzpłytkowego wapnia i hamować aktywność PLC. Przyjmując istnienie dwóch różnych mechanizmów receptor/efektor, poprzez które TxA₂ mógłby wpływać na aktywację płytek (pierwszy – poprzez wzrost stężenia plazmatycznego Ca²⁺ prowadzący do zmiany kształtu płytek, i drugi – powiązany z aktywacją PLC i PKC), czego efektem byłaby agregacja i sekrecja, uważa się, że pikotamid jest zdolny do inhibicji obu tych torów metabolicznych [9].

Ridogrel jest silnym inhibitorem enzymatycznej aktywności syntazy tromboksanu A_2 w niskich stężeniach ($\pm 1 \times 10^{-8}$ mol/L) oraz względnie słabym i kompetycyjnym blokerem receptora TxA_2/PGH_2 w zakresie znacznie wyższych stężeń (1×10^{-5} mol/L). W różnych modelach eksperymentalnych ridogrel powodował ograniczenie żylną lub tętniczą zakrzepicy w stanach tworzenia zakrzepu. Ridogrel redukował *in vitro* tworzenie TxB_2 i kwasu heptadekatrienowego z kwasu arachidonowego w przemywanych płytkach świniki morskiej oraz zwiększał wytwarzanie $PGF_{2\alpha}$, PGE_2 , PGD_2 , pozostając bez wpływu na działanie lipooksygenazy w szlaku wytwarzania kwasu 12-hydroksyeikozatetraenowego (12-HETE). Dazoxiben (inhibitor syntetazy TxA_2) w tym samym stężeniu odgrywał podobną rolę, podczas gdy suprofen (inhibitor cyklooksygenazy) redukował tworzenie $PGF_{2\alpha}$, TxB_2 , PGE_2 , PGD_2 , kwasu heptadekatrienowego oraz zwiększał produkcję 12-HETE. Ridogrel redukował także powstawanie MDA w płytkach stymulowanych trombiną, co może sugerować hamowanie wytwarzania eikozanoidów przez ten lek [2]. Wspólne zastosowanie antagonisty receptora TxA_2 , SQ-30741 oraz ridogrelu znacząco obniżało zależne od płytek zwężenie tętnic z uszkodzoną warstwą komórek śródbłónka lub naczyń pozbawionych zupełnie okładziny komórek śródbłónka. Sugeruje to, że ridogrel mógłby nie tylko interferować z metabolizmem płytek, ale także mógłby wpływać na interakcje płytka-ściana naczynia [20].

Uzupełniające i dopełniające działanie antagonistów receptora tromboksanu oraz inhibitorów metabolizmu arachidonianu w płytkach wykazano w badaniach, w których testowano działanie leków na różnych etapach kaskady metabolizmu AA na agregację płytek kontrolnych i z „odczulonymi” receptorami tromboksanu. Wykazano, że preparat OKY046, inhibitor syntazy tromboksanu, nie wpływał na proces agregacji w płytkach kontrolnych, ale znacząco zmniejszał agregację płytek „odczulonych”. Natomiast BM13.505, antagonist receptoru TxA_2/PGH_2 , nie inhibował agregacji ani w płytkach kontrolnych, ani „odczulonych”. Okazało się jednak, że połączone działanie obu tych leków obniżało znacząco agregację, zaś efekt inhibitorowy był dużo silniejszy w płytkach „odczulonych”, co zaobserwowano również po zastosowaniu ridogrelu i pikotamidu. Prawdopodobnie, odczulanie receptora TxA_2 jest połączone z uwrażliwieniem cykazy adenylowej w ludzkich płytkach. Inhibicja agregacji płytek przez PGD_2 lub PGI_2 była silniejsza w płytkach „odczulonych” niż kontrolnych, także wzrost wewnątrzpłytkowego cAMP był dużo większy w płytkach odczulonych. Sugeruje się zatem, że silniejszy efekt inhibitorowy leków o podwójnym działaniu (hamowanie syntazy tromboksanu i antagonizm receptora) mógłby być konsekwencją wyższej akumulacji cAMP w płytkach [19].

MODULATORY INNYCH RECEPTORÓW EIKOZANOIDOWYCH

Najsilniej działającymi inhibitorami agregacji płytek i sekrecji ziarnistości wewnątrzpłytkowych są prostaglandyny E_1 (PGE_1), prostacykliny (PGI_2), jak również ich stabilne analogi, takie jak iloprost, cicaptost czy taprosten. Wiążą się one do specyficznego receptora na powierzchni płytki powiązanego z cyklazą adenylową, co prowadzi do wzrostu wewnątrzkomórkowego poziomu cyklicznego AMP. Wzrost poziomu cAMP stymuluje kinazy białkowe zależne od cAMP (kinazy A) i warunkuje transport Ca^{2+} do wewnątrzkomórkowych rezerwuarów magazynowania wapnia. W wyniku tego niski poziom Ca^{2+} utrzymuje płytkę w stanie spoczynkowym i inhibuje wszystkie rodzaje odpowiedzi płytek na działanie agonistów [13]. Fosforylacja specyficznych białek zależna od cAMP prowadzi jednocześnie do inhibicji transdukcji sygnału w jej wczesnych i późnych etapach [6].

Iloprost jest potencjalnym inhibitorem aktywacji płytek. Agregacja i reakcja uwalniania płytek stymulowanych kolagenem czy adrenaliną w warunkach *in vitro* jest zasadniczo całkowicie znoszona przez iloprost działający w nanomolarnych stężeniach. Przypuszczalny mechanizm działania antyagregacyjnego tego leku opiera się, jak wyżej wspomniano, na aktywacji cyklazy adenylowej, która zwiększa poziom wewnątrzpłytkowego cAMP i nie pozostaje bez wpływu na aktywność fosfolipazy C i poziom wapnia w cytozolu płytek. Obniżenie zdolności wiązania receptora przez ten lek, ale nie powinowactwa do niego, zostało stwierdzone w ludzkich płytkach poddawanych działaniu iloprostu w warunkach *in vitro* oraz *in vivo*. Iloprost posiada aktywność fibrynolityczną, zdolność rozszerzania naczyń krwionośnych, hamuje zwężenie tętnic indukowane AA, TxA_2 lub angiotensyną [18]. Innymi stabilnymi analogami prostacyklin o potencjalnym znaczeniu klinicznym są ciprosten czy taprosten, a także testowane ostatnio w badaniach klinicznych niektóre pochodne PGI_2 wykazujące skuteczność po podaniu doustnym [18].

Tlenek azotu i jego donory, takie jak nitroprusydek (SNP) i 3-morfolinosyndomina (SIN-1), nie posiadają właściwości stymulacji syntezy cAMP, a przez to inhibicji agregacji i sekrecji płytek, ale okazują się dużo bardziej wydajne niż PGI_2 w redukcji adhezji płytek do komórek śródbłonna i włókien kolagenu. Tlenek azotu dyfunduje przez błonę komórkową i stymuluje aktywność rozpuszczalnej cyklazy guanylowej, prowadząc do podniesienia poziomu cGMP, prowadzi także do inhibicji uwalniania cytozolowego wapnia i zależnej od cGMP fosforylacji specyficznych białek. Na drodze tych mechanizmów tlenek azotu przyczynia się do blokady transdukcji sygnału w płytce.

Wykazano występowanie synergizmu pomiędzy działaniem iloprostu i aspiryny w hamowaniu adhezji/agregacji płytek w krwi krążącej oraz hamowaniu agregacji płytek aktywowanych kolagenem w osoczu bogato-płytkowym. Współdziałanie to nie wiąże się z inhibicją sekrecji ziarnistości o dużej gęstości elektronowej, a możliwe, że opiera się na zupełnie innym mechanizmie. Jak stwierdzono wcześniej, zablokowanie cyklooksygenazy przez aspirynę wyklucza tworzenie cyklicznych nadtkeneków prostaglandynowych i tromboksanu, potencjalnych induktorów ekspozycji receptora dla fibrynogenu, i wówczas wymagane jest niższe stężenie cAMP do zahamowania agregacji indukowanej agonistami. Podobny synergizm działania zaobserwowano dla SIN-1, SNP i iloprostu. Czynniki te podnoszą wewnątrzkomórkowy poziom cGMP i cAMP, co stanowi molekularny mechanizm ich oddziaływania z płytkami krwi. Wzrost poziomu cAMP jest potęgowany przez donory tlenu azotu, poprzez specyficzną inhibicję fosfodiesterazy zależną od cGMP. Stwierdzono, że SIN-1 i iloprost działały synergistycznie w procesach fosforylacji białek VASP i rap1B, białek homologicznych do ras, które są substratami dla kinaz białkowych G i A. Sądzi się, że fosforylacja białka rap1B, która, w przeciwieństwie do fosforylacji białka VASP, była silniej zaznaczona i nieodwracalna, prawdopodobnie nie przyczynia się bezpośrednio do hamowania agregacji i sekrecji. Sugeruje się, że chociaż białko rap1B nie odgrywa funkcjonalnej roli w obserwowanym synergizmie leków, może ono jednak być sprawdzającym się biochemicznym markerem monitorowania interakcji tych związków [6].

LITERATURA

- [1] Armstrong R. A. (1996), *Pharmacol. Ther.*, **72**, 171–191.
- [2] Bereau M. F., De Clerck F., Lefort J., Arreto C. D., Vargaftig B. B. (1992), *J. Pharm. Exp. Therap.*, **260**, 832–840.
- [3] Blockmans D., Deckmyn H., Vermeylen J. (1995), *Blood Rev.*, **9**, 143–156.
- [4] Brass L. F., Manning D. R., Cichowski K., Abrams C. S. (1997), *Thromb. Haemost.*, **78**, 581–589.
- [5] Hoet B., Falcon C., De Reys S., Arnout J., Deckmyn H., Vermeylen J. (1990), *Blood*, **75**, 646–653.
- [6] Negrescu E. V., Grunberg B., Kratzer M. A. A., Lorenz R., Siess W. (1995), *Cardiovasc. Drugs Ther.*, **9**, 619–629.
- [7] Pastcheke H. (1990), *Stroke*, **21** (Suppl. IV), IV139–IV142.
- [8] Perzborn E., Fiedler V. B., Seuter F., Stasch J. P., Weber H., Sander E., Boshagen H., Rosentreter U. (1990), *Stroke*, **21** (Suppl. IV), IV143–IV145.
- [9] Pulcinelli F. M., Pignatelli P., Riondino S., Parisi S., Castiglioni C., Gazzaniga P. P. (1994), *Thromb. Res.*, **74**, 453–461.
- [10] Rao G. H. (1993), *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, **37**, 263–275.
- [11] Rao G. H., Rao A. T. (1994), *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, **38**, 69–84.

- [12] Schafer A. I. (1996), *Am. J. Med.*, **101**, 199–209.
- [13] Schror K. (1995), *Drugs*, **50**, 7–26.
- [14] Seuter F., Perzborn E., Fiedler V. B. (1990), *Stroke*, **21** (Suppl. IV), IV146–IV148.
- [15] Shock D. D., He K., Wenceldrake J. D., Parise L. V. (1997), *Biochem. J.*, **321**, 525–530.
- [16] Takiguchi Y., Asai F., Wada K., Nakashima M. (1995), *Throm. Haem.*, **73**, 683–688.
- [17] Valentin J., Vieu S., Bertolino F., Faure P., John G. W. (1997), *J. Pharm. Exp. Therap.*, **280**, 761–769.
- [18] Verstraete M., Zoldhelui P. (1995), *Drugs*, **49**, 856–884.
- [19] Vezza R., Nenci G. G., Gresele P. (1995), *J. Pharm. Exp. Therap.*, **275**, 1497–1505.
- [20] Yang Z., Arnet U., Beuer E., Von Segesser L., Siebenmann R., Turina M., Luscher T. F. (1994), *Circulation*, **89**, 2266–2272.

Wpłynęło do Redakcji
Folia biochimica et biophysica
24.04.1998

Samodzielna Pracownia Zaburzeń Krzepnięcia Krwi
Katedry Diagnostyki Laboratoryjnej
Akademia Medyczna w Łodzi

Bogusława Więclawska, Cezary Watała

MODULATION OF BLOOD PLATELET ACTIVATION – THROMBOXANE RECEPTOR ANTAGONISTS AND PROSTANOID ANALOGS

For years the major clinical indication for antiplatelet therapy has been the prevention of arterial thrombosis. It was mainly because arterial thrombi are composed of predominantly platelets formed under conditions of elevated shear stress at sites of atherosclerotic vascular injury and disturbed blood flow. For almost half a century acetylsalicylic acid (Aspirin®) was employed in clinical settings as the prototype antiplatelet agent. Although its clinical efficacy and safety has been well recognised for decades, it has always been regarded as a relatively weak antiplatelet agent and several clinical trials have exposed the limitations of aspirin. This prompted a search for other strategies to reduce platelet thrombus formation, and there has been considerable recent progress in the development of more effective antiplatelet agents. Many new, more potent, antiplatelet agents became recently available for clinical evaluation and intervention. Amongst platelet inhibitors of a newer generation including inhibitors of platelet adhesion, inhibitors of specific platelet agonist-receptor interactions (antithrombins, fibrinogen receptor antagonists, thromboxane A₂ receptor antagonists, ADP receptor blockers like ticlopidine and clopidogrel, or inhibitors of thromboxane synthase and arachidonic acid metabolism, only the antagonists of platelet receptors have been demonstrated to allow more global interruption of both the initial and final steps of platelet activation, adhesion and aggregation.

In this review we discuss molecular mechanisms of action(s) of thromboxane receptor antagonists and prostanoid analogs in blood platelets with respect to their potential clinical significance as the agents modulating platelet activation.