

Anna Goździalska, Jerzy Jaśkiewicz, Władysław Pajdak

Krakowska Akademia im. A. Frycza Modrzewskiego,
Wydział Zdrowia i Nauk Medycznych

PORÓWNANIE AKTYWNOŚCI ESTERAZY ASPIRYNOWEJ I CHOLINESTERAZY W GRUPACH OSÓB ZDROWYCH I CHORYCH

adres korespondencyjny:

Anna Goździalska, Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego,
Wydział Zdrowia i Nauk Medycznych, 30-705 Kraków, ul. Gustawa Herlinga-Grudzińskiego 1
e-mail: anna.gozdzialska@gmail.com

Streszczenie: Esteraza aspirynowa (EC 3.1.1.55) jest enzymem katalizującym hydrolizę kwasu acetylosalicylowego (aspiryny) do kwasu salicylowego i kwasu octowego. Esteraza aspirynowa jest obecna między innymi w wątrobie, krwinkach czerwonych i osoczu. Uważa się powszechnie, że jest ona różna od karboksylesterazy (EC 3.1.1.1), arylesterazy (EC 3.1.1.7) i cholinesterazy (EC 3.1.1.8). Pomiedzy cholinesterazą a esterazą aspirynową podobieństwa są tak znaczne, że według niektórych autorów, te dwa enzymy są identyczne. Sporu dotąd nie rozstrzygnięto.

W pracy mierzono równolegle aktywność esterazy aspirynowej i cholinesterazy w 106 próbkach surowicy pochodzącej od zdrowych dawców krwi oraz w 120 próbkach surowicy pacjentów, aktywności wyrażano w $\mu\text{kat/L}$. Stwierdzono bardzo wysoką pozytywną korelację pomiędzy tymi dwiema aktywnościami – aktywność esterazy aspirynowej była około 10-krotnie niższa niż aktywność cholinesterazy.

Wyniki badań wskazują, że występują dwie różne aktywności, choć niekoniecznie dwa różne białka. Warto wziąć pod uwagę możliwość, że cząsteczka enzymu posiada dwa niezależne centra aktywne. Molekularne podstawy podobieństw i różnic tych dwóch enzymów będą wyjaśniane.

Słowa kluczowe: esteraza aspirynowa, cholinesteraza

Wprowadzenie

Aspiryna (kwas acetylosalicylowy) znana jest już od około trzech i pół tysiąca lat. Obecnie jest jednym z najpowszechniej stosowanych leków: podawana jako popularny środek przeciwbólowy, przeciwgorączkowy oraz niesteroidowy lek przeciwzapalny. Jest również znanym czynnikiem zapobiegającym agregacji płytek i w związku z tym, stosowana jest w długotrwałej prewencji zawału mięśnia sercowego. Stosowanie aspiryny zatem stało się bardzo popularne. Światowa produkcja aspiryny wynosi tysiące ton rocznie. W krajach rozwiniętych statystyczny mieszkaniec zażywa około 100 tabletek tego leku w ciągu roku [1].

Działanie aspiryny w organizmie człowieka można rozpatrywać w wielu aspektach. Jednym z nich jest inhibicja przez aspirynę enzymów o znamiennej dla ustroju funkcji, np. dehydrogenaz, przez co rozprzęgana jest fosforylacja oksydacyjna; aminotransferaz; proteaz, które biorą istotny udział zarówno w ostrych procesach zapalnych, jak i w przewlekłych. Poprzez hamowanie aktywności określonych enzymów tłumaczono działanie przeciwbólowe i przeciwgorączkowe aspiryny na organizm [1, 2, 3].

Aspiryna obniża poziom prostaglandyn uwalnianych do układu krążenia w procesach zapalnych [4, 5]. Dzieje się to na skutek hamowania cyklooksygenaz (COX), biorących udział w przemianie kwasu arachidonowego do prostaglandyn i tromboksanów [4, 5, 6, 7, 8, 9]. Na działanie aspiryny wrażliwe są trombocyty. U ludzi aspiryna blokuje nieodwracalnie aktywność COX1 w trombocytach [10, 11]. Aspiryna hamuje powstawanie trombiny w procesie krzepnięcia krwi, prawdopodobnie przez acetylację protrombiny [12, 13, 14].

U ludzi aspiryna po doustnym podaniu jest wchłaniana w jelicie i pozostaje we krwi jako ester przez około 60–90 min. [1, 15, 16, 17, 18, 19]. Po tym czasie następuje hydroliza aspiryny do kwasu salicylowego i octowego. Kwas acetylosalicylowy wykazuje znacznie silniejsze działanie przeciwbólowe niż kwas salicylowy [1, 20]. Na czas krzepnięcia i agregację płytek również ma wpływ jedynie kwas acetylosalicylowy, a nie kwas salicylowy [11, 21]. W działaniu przeciwzapalnym skuteczność obu tych związków – kwasu acetylosalicylowego i kwasu salicylowego, jest podobna [22].

W krwioobiegu zarówno aspiryna, jak i kwas salicylowy są wiązane przez białka osocza, głównie albuminę, przy czym intensywniej i silniej wiązany jest kwas salicylowy [23, 24].

Głównym enzymem hydrolizującym aspirynę do kwasu salicylowego i octanu jest esteraza aspirynowa. W piśmiennictwie spotkać można dla tego enzymu również takie nazwy, jak: aspirynaza, acetylaza kwasu acetylosalicylowego, oraz o-acetylohydrolaza kwasu acetylosalicylowego (EC 3.1.1.55) [11, 25, 26, 27, 28]. W dalszej części pracy przyjęto używać dla tego enzymu określenie esteraza aspirynowa. Enzym hydrolizujący aspirynę należy do hydrolaz, jest esterazą, rozkładającą wiązania estrowe między grupą o-fenolową kwasu salicylowego a kwasem octowym [29, 30, 31, 32, 33]. Esteraza aspirynowa jest monomerem o masie ok. 35 kD [34, 35]. Enzym występuje m.in. w wątrobie, nerkach, śluzówce żołądka i śluzówce jelita oraz w mózgu, jednak aktywność jest wyraźnie niższa niż w wątrobie czy osoczu [28, 34, 36].

W klasie esteraz wyróżniono trzy podklasy: cholinesterazy, karboksylesterazy i arylesterazy. Do najlepiej poznanych esteraz należą: cholinesteraza (pseudocholinesteraza, EC 3.1.1.8.), acetylocholinesteraza (właściwa cholinesteraza, EC 3.1.1.7), karboksylesteraza (EC 3.1.1.1) i arylesteraza (EC 3.1.1.2). Właściwości wymienionych enzymów są jednak różne od esterazy aspirynowej (EC 3.1.1.55.) [37]. Wiadomo jednak, że związki działające hamująco na cholinesterazę hamują też działanie aspirynazy [38]. Zauważano też korelację aktywności esterazy aspirynowej i cholinesterazy u ludzi [22, 39, 40, 41, 42, 43].

Zakres pH odpowiedni do działania aspirynazy wynosi od 5,5 do 9,0. Optimum pH wynosi 7,6. Temperatura optymalna dla katalizy mieści się w zakresie 25–37°C [27, 34]. Inhibitorami esterazy aspirynowej są różne związki chemiczne, wśród których wymienia się paraoxon, fosforan bis-4-nitrofenylu [27, 34, 44], siarczan fizostygminy, bromek neostygminy, naproxen, paracetamol, fluorek sodu (NaF) i fenacetyna [11, 45, 46, 47].

Lecznicze funkcje aspiryny spełnia tylko jej niezhydrolizowana forma, stąd skuteczność leczenia aspiryną można zwiększyć przez podawanie tego leku w mieszaninie z inhibitorami aspirynazy. Esterazę aspirynową występującą w przewodzie pokarmowym, hamuje etanol [19, 48]. U alkoholików zahamowana aspirynaza nie rozkłada aspiryny, co prowadzi do uszkodzenia śluzówki żołądka i częstszego powstawania choroby wrzodowej [22, 49].

Niektórzy badacze sugerują, że aktywność esterazy aspirynowej pozytywnie koreluje z aktywnością cholinesterazy [22, 39, 40, 41, 42, 43], wydaje się także, na podstawie badań immunologicznych, że obydwa te enzymy to jedno białko o dwóch centrach aktywnych.

Cholinesteraza EC 3.1.1.8. to enzym należący do esteraz o systematycznej nazwie acylohydrolaza acylocholino (cholinesteraza niespecyficzna, pseudocholinesteraza, cholinesteraza II, butyrylocholinesteraza, propionylcholinesteraza

lub benzoilocholinesteraza) [37, 50]. W dalszej części pracy będzie stosowana nazwa cholinesteraza.

Substratami cholinesterazy są: acetylocholina, benzoilocholina, propionylotiocholina, bursztynylocholina, bursztynylomonocholina, sukcyndoditiocholina, maślan choliny, oraz inne cholinowe estry, a także estry niecholinowe jak na przykład octan α -naftyłu [37, 51, 52].

Optimum pH aktywności cholinesterazy występuje pomiędzy 7,6 a 8,7. Enzym aktywują jony Mg^{2+} oraz Ba^{2+} . Optymalną temperaturą do przeprowadzania reakcji jest zakres 25–37°C [17]. Cholinesteraza jest stabilna termicznie i wykazuje aktywność nawet w temperaturze 58°C [53]. Inhibitorami cholinesterazy są: maloxan, związki fosforoorganiczne [54], benzen, toluen, fizostygmina oraz neostygmina [37].

U ludzi cholinesteraza syntetyzowana jest w wątrobie jako enzym sekcyjny, równoległe do syntezy albumin. Jest syntetyzowana również w mięszu trzustki, w mięśni sercowym oraz w mięśniach szkieletowych i istocie białej mózgu. Enzym ten bierze udział wraz z acetylocholinesterazą w regulacji przewodzenia impulsów nerwowych oraz w procesach detoksykacyjnych [37].

Zakres referencyjny wartości prawidłowych aktywności cholinesterazy w surowicy ludzkiej krwi wynosi od 31,7 do 63,3 μ kat/L lub od 1900 do 3800 U/L [55]. Oznaczanie cholinesterazy w surowicy ma duże znaczenie diagnostyczne. Obniżone wartości obserwuje się w takich chorobach wątroby, jak: ropnie wątroby, trychinoza, pierwotne i wtórne nowotwory wątroby oraz żółtaczk mechaniczna o podłożu nowotworowym. Obniżone aktywności cholinesterazy są istotne w rozpoznaniu zatruc środkami owadobójczymi zawierającymi organiczne związki fosforu. Spadek aktywności cholinesterazy spotyka się w zawale mięśnia sercowego (parametr pomocniczy), w zastoinowej niewydolności krążenia, w ostrym zapaleniu nerek i zatruciu ciężowym [56]. W nerczycy i cukrzycy następuje wzrost aktywności osoczowej cholinesterazy.

U niektórych osób stwierdzono uwarunkowany genetycznie niedobór aktywności cholinesterazy. U 4,5% ludzi pojawiają się atypowe formy tego enzymu o obniżonej aktywności. Niedobór taki powoduje nadwrażliwość na leki z grupy suksametonium stosowane podczas zabiegów operacyjnych. Wówczas przedłużony jest okres bezdechu pacjenta przy wybudzaniu z narkozy.

Celem pracy było porównanie aktywności esterazy aspirynowej i cholinesterazy surowicy ludzkiej krwi.

Material i metody

Badania wykonywano w surowicy uzyskanej od zdrowych dawców z Punktu Krwiodawstwa Szpitala Uniwersyteckiego Collegium Medicum w Krakowie oraz w surowicy pacjentów klinik i przychodni II Katedry Chorób Wewnętrz-

nych Collegium Medicum UJ. Wykorzystywano próbki surowicy pozostałe po wykonaniu badań diagnostycznych.

Wiek dawców zawarty był w przedziale od 18 do 45 lat, byli oni zdrowi zgodnie z rygorystycznymi wymogami stawianymi dawcom krwi. Wiek pacjentów natomiast zawierał się w przedziale od 30 do 85 lat. Byli to pacjenci leczenia z powodu schorzeń sercowo-naczyniowych, chorób immunologicznych oraz z przewlekłymi schorzeniami dróg oddechowych.

Krew pobraną z żyły łokciowej od osób na czczo pozostawiano do wykrzepienia w temperaturze pokojowej na 1 godzinę. Następnie umieszczano materiał w temp. +4°C, na 30 minut, aby powstały skrzep uległ retrakcji. Tak przygotowany materiał wirowano w wirówce Mega Fuge 2. 0R firmy Hareus przy 3500 x g, przez 10 minut, w temp. 4°C. Uzyskaną surowicę do chwili wykonania oznaczeń przechowywano w temperaturze -80°C.

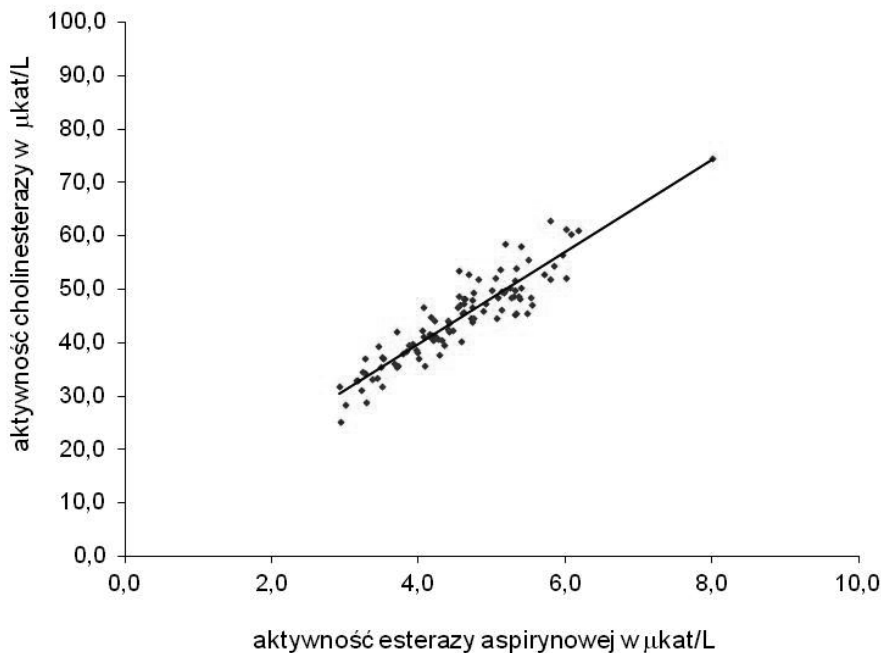
Aktywność esterazy aspirynowej oznaczano spektrofotometrycznie wg Sorensena [98]. Aktywność cholinesterazy oznaczano używając zmodyfikowanej, dla potrzeb niniejszej pracy, metody Sorensena [98]. W stosunku do oryginalnej metody Sorensena zmieniony został substrat – zamiast kwasu acetylosalicylowego zastosowano octan α -naftyłu. Następstwem takiej modyfikacji była zmiana maksimum absorbancji w mierzonych próbkach.

Zasadą metody jest pomiar zmiany absorbancji wynikającej ze zmiany ilości produktu reakcji, czyli α -naftolu, na skutek rozkładu octanu α -naftyłu. Reakcja katalizowana jest przez cholinesterazę. Ilość powstającego produktu jest miarą aktywności enzymatycznej cholinesterazy.

Wyniki

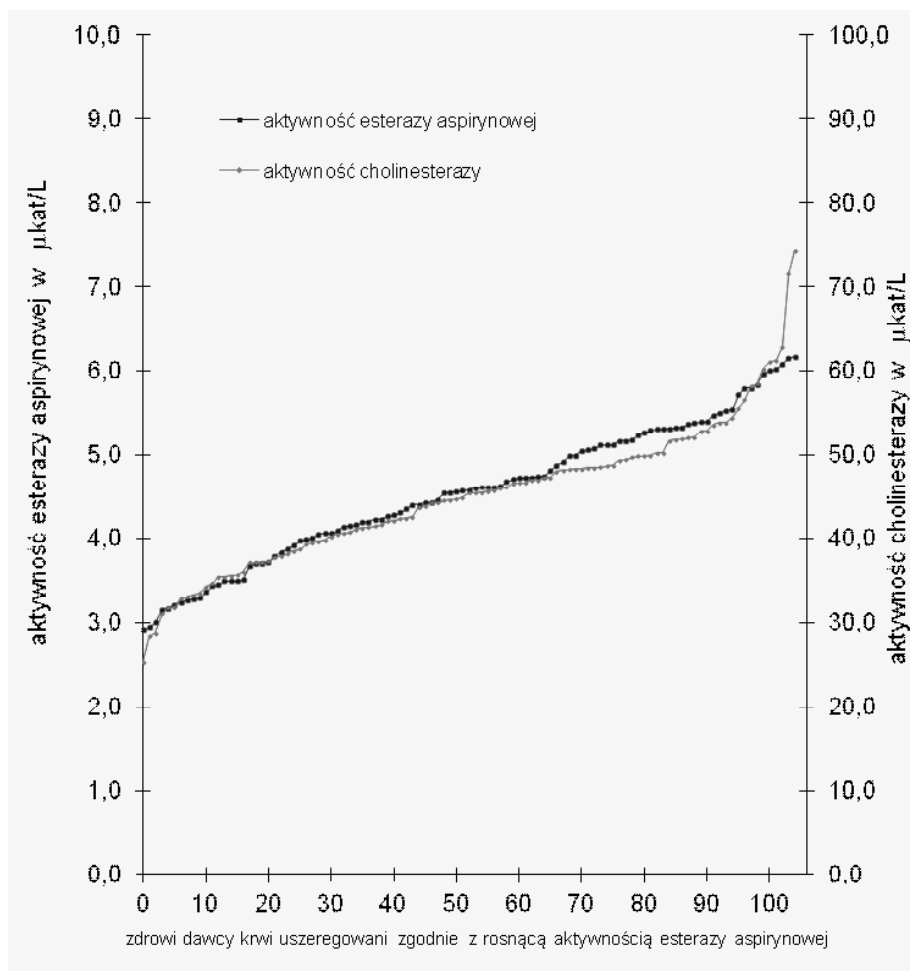
Aktywność esterazy aspirynowej i cholinesterazy oznaczono w surowicy krwi w dwóch grupach osób. Pierwszą z nich stanowili dawcy krwi (106 osób), drugą chorzy (120 osób) Klinik i Przychodni II Katedry Chorób Wewnętrznych w Krakowie.

Aktywność esterazy aspirynowej i cholinesterazy w surowicy, w grupie 106 zdrowych dawców krwi przedstawiono na rycinie 1. Wartości aktywności esterazy aspirynowej zawierały się w granicach od 2,9 do 6,2 μ kat/L, a aktywność cholinesterazy od 25,3 do 63,9 μ kat/L. Średnia wartość aktywności dla esterazy aspirynowej i cholinoesterazy wynosiła odpowiednio $4,6 \pm 0,56$ μ kat/L oraz $45,2 \pm 11,7$ μ kat/L. Współczynnik korelacji liczony dla par aktywności: esterazy aspirynowej i cholinesterazy, mierzonych u każdego dawcy, osiągał wartości powyżej 0,89. Istnieje silny pozytywny związek ($r = 0,78$; $p < 0,001$) między aktywnością esterazy aspirynowej i cholinesterazy.



Ryc. 1. Zależności aktywności esterazy aspirynowej i cholinesterazy w surowicy zdrowych dawców krwi. Na osi odciętych umieszczono aktywność esterazy aspirynowej, a na osi rzędnych aktywność cholinesterazy poszczególnych próbek surowicy

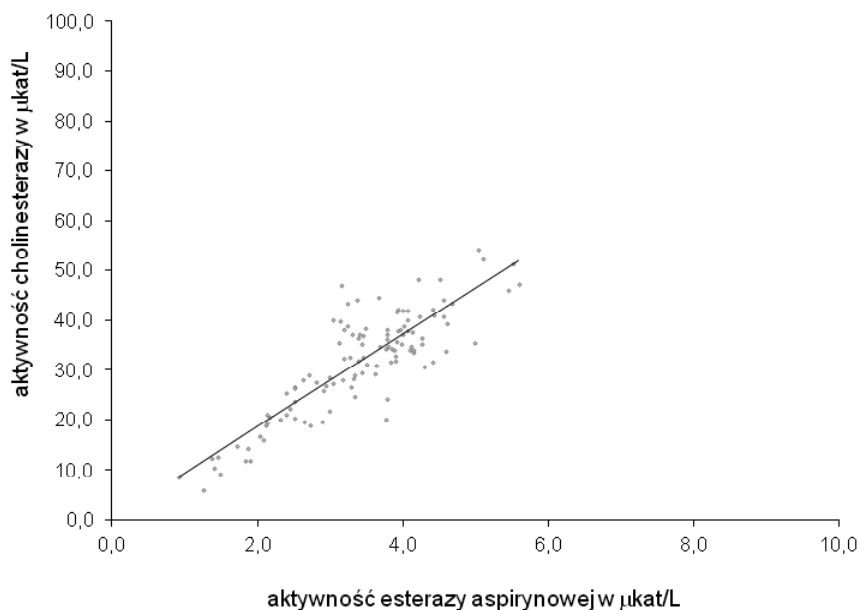
Inny sposób ilustracji współzależności aktywności esterazy aspirynowej i cholinesterazy przedstawiony jest na rycinie 2, gdzie uporządkowano dawców zgodnie z rosnącymi aktywnościami esterazy aspirynowej. Wykazano równoległe ułożenie krzywych przedstawiających wartości aktywności esterazy aspirynowej i cholinesterazy. Poza niewielkimi odchyleniami przy najwyższych i najniższych wartościach, stwierdzono wysoką dodatnią korelację. Współczynnik korelacji liczony dla par aktywności osiągał wartości powyżej 0,89.



Ryc. 2. Aktywności esterazy aspirynowej i cholinesterazy w surowicy zdrowych dawców krwi. Na lewej osi rzędnych – aktywność esterazy aspirynowej, na prawej osi rzędnych – aktywność cholinesterazy. Na osi odciętych uszeregowano zdrowych dawców krwi zgodnie z rosnącą aktywnością esterazy aspirynowej

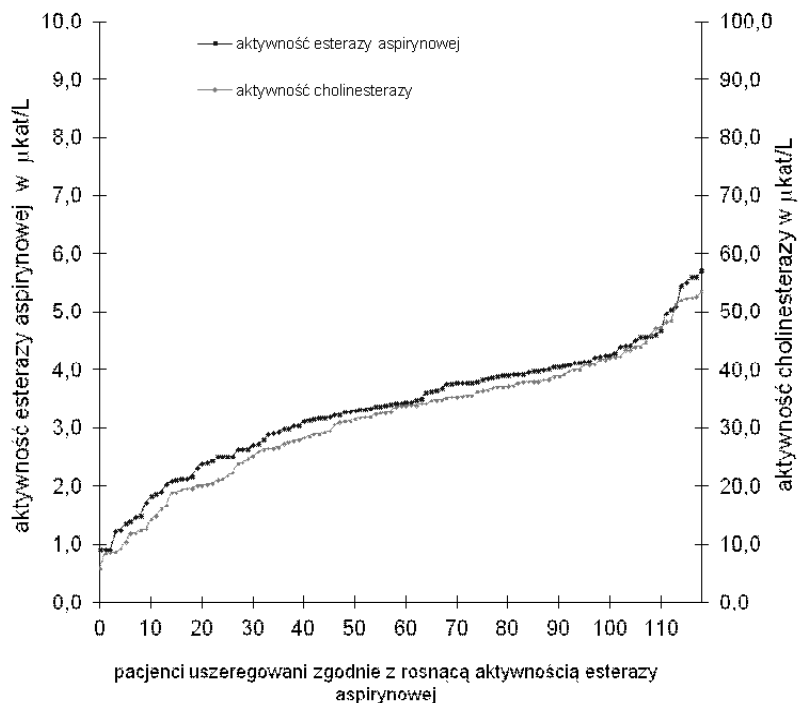
W grupie losowo dobranych 120 pacjentów zmierzono aktywność esterazy aspirynowej i cholinesterazy w surowicy krwi. Zestawienie wyników przedstawiono na rycinie 3. Aktywność esterazy aspirynowej była zawarta w granicach od 0,9 do 5,7 $\mu\text{kat/L}$, a aktywność cholinesterazy od 5,9 do 53,5 $\mu\text{kat/L}$. Wartość średnia dla esterazy aspirynowej i cholinesterazy wynosiła odpowiednio $3,2 \pm 0,56 \mu\text{kat/L}$ oraz $32,6 \pm 7,2 \mu\text{kat/L}$. Współczynnik korelacji liczony dla par

aktywności: esterazy aspirynowej i cholinesterazy, mierzonych u jednego dawcy, osiągał wartości powyżej 0,85. Istnieje silny pozytywny związek ($r = 0,92$; $p < 0,001$) pomiędzy aktywnością esterazy aspirynowej i cholinesterazy.



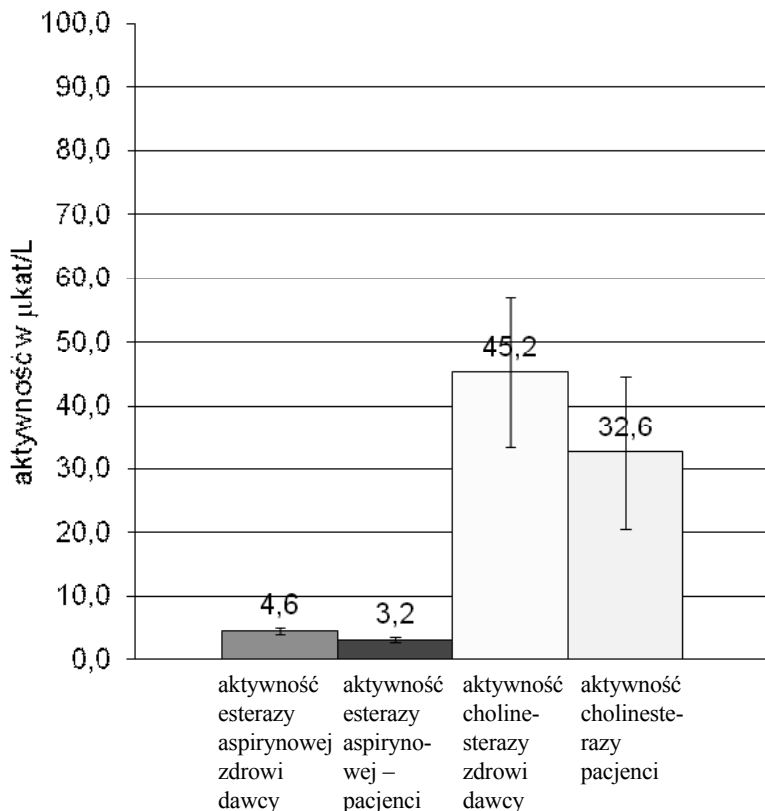
Ryc. 3. Zależności aktywności esterazy aspirynowej od aktywności cholinesterazy w grupie 120 osób chorych. Na osi odciętych zaznaczono aktywność esterazy aspirynowej, a na osi rzędnych aktywność cholinesterazy badanych próbek surowicy

Jeszcze inny sposób ilustracji współzależności aktywności esterazy aspirynowej i cholinesterazy w grupie 120 pacjentów przedstawiony jest na rycinie 4, gdzie uporządkowano dawców zgodnie z rosnącymi aktywnościami esterazy aspirynowej. Wykazano równoległe ułożenie krzywych przedstawiających wartości aktywności esterazy aspirynowej i cholinesterazy.



Ryc. 4. Aktywności esterazy aspirynowej i cholinesterazy w surowicy osób chorych. Na lewej osi rzędnych – aktywność esterazy aspirynowej, na prawej osi rzędnych – aktywność cholinesterazy. Na osi odciętych uszeregowano pacjentów zgodnie z rosnącą aktywnością esterazy aspirynowej

Zestawiono dane wartości aktywności esterazy aspirynowej i cholinesterazy w grupie zdrowych dawców oraz pacjentów. Stwierdzono, że obie aktywności enzymatyczne wykazują wartości znamienne wyższe u zdrowych dawców krwi niż u osób chorych ($p = 0,002$ w obu przypadkach). Zestawione wyniki przedstawiono na rycinie 5.



Ryc. 5. Średnie wartości aktywności oraz wartości odchylenia standardowego (śr. \pm SD) esterazy aspirynowej u zdrowych dawców krwi ($4,6 \pm 0,56$ $\mu\text{kat/L}$) oraz u pacjentów ($3,2 \pm 0,42$ $\mu\text{kat/L}$) i cholinesterazy u zdrowych dawców krwi ($45,2 \pm 0,95$ $\mu\text{kat/L}$) oraz u pacjentów ($32,6 \pm 7,2$ $\mu\text{kat/L}$).

Dyskusja

Pomimo bardzo rozległych i wyczerpujących badań, nie ma ujednoczonego poglądu na temat „molekularnych nośników” aktywności aspirynazowej i cholinesterazowej. Śledząc dane bibliograficzne [22, 43, 47, 50, 51, 56, 57, 58, 59] można nawet odnieść wrażenie, że autorzy zajmowali się wybiórczo jedną lub drugą aktywnością. Choć zauważano korelację pomiędzy tymi dwiema aktywnościami, nie dawano odpowiedzi na pytanie, czy jest to jedna czy też dwie cząsteczki enzymu(ów). Mając zatem świadomość problemów, które może nastęrczać próba odpowiedzi na tak sformułowane pytanie, podjęto badania nad równoległą, porównawczą analizą aspektów biochemicznych tych dwóch (?) enzymów/aktywności. W piśmiennictwie istnieją liczne dane dotyczące obecności oddzielnie

aktywności esterazy aspirynowej, EC 3.1.1.55 [np. 22, 43, 47, 59, 60, 61, 62, 63] i cholinesterazy, EC 3.1.1.8 [np. 50, 52, 64] w surowicy ludzkiej krwi.

W przedstawionej pracy stwierdzono zaskakująco wysoką korelację aktywności esterazy aspirynowej i cholinesterazy w grupie zdrowych dawców i pacjentów. Aktywność esterazy aspirynowej była zawsze około 10 razy niższa niż aktywność cholinesterazy, gdy wyrażano ich wartości w $\mu\text{kat/L}$. Nie dokonano podziału na grupy wiekowe u badanych; wiadomo bowiem z piśmiennictwa, że aktywność tak esterazy aspirynowej, jak i cholinesterazy nie jest zależna od wieku osoby badanej [43, 65, 66, 67, 68, 69].

Porównując aktywności esterazy aspirynowej i cholinesterazy w surowicy zdrowych dawców krwi uzyskano wyniki porównywalne z podanymi wcześniej przez Williamsa [22].

Analogiczne oznaczenia aktywności esterazy aspirynowej i cholinesterazy przeprowadzono w surowicy 120 losowo dobranych pacjentów. Również w tej grupie stwierdzono wyraźną pozytywną korelację obydwóch aktywności, choć niższą niż u osób zdrowych. Ze względu na losowy dobór pacjentów nie można wykluczyć wpływu stanu chorobowego czy leczenia na mierzone aktywności enzymatyczne. Podawane leki oraz wewnątrzustrojowe, zróżnicowane defekty metaboliczne, mogą powodować zaburzenia korelacji. Jednak pomimo występowania odchyień przy wartościach ekstremalnych, współczynnik korelacji liczony dla par aktywności nie był niższy niż 0,85. To spostrzeżenie może nasuwać przypuszczenie, że mierzone aktywności mogą być modyfikowane różnymi procesami chorobowymi. Już tutaj można zasugerować ewentualną kontynuację tego fragmentu badań, dobierając np. pacjentów z astmą aspirynową. Można byłoby również objąć badaniami pacjentów ze schorzeniami wątroby – organu prowadzącego syntezę m.in. szeregu enzymów, w tym obu badanych grupach. Schorzenia wątroby mogą zatem potencjalnie prowadzić do zmian aktywności enzymatycznych.

Znane są obserwacje dotyczące spadku aktywności esterazy aspirynowej i cholinesterazy u osób chorych [39, 40, 42, 43]. Również w wynikach przedstawionych tutaj badań stwierdzono wyraźnie niższe wartości średnie aktywności esterazy aspirynowej i cholinesterazy u chorych niż u zdrowych. A zatem obie aktywności osiągają wartości niższe u chorych niż u zdrowych, różnice te są znamienne statystycznie ($p = 0,002$).

Nakładanie się zakresu jednej i drugiej aktywności i u zdrowych i u chorych może wskazywać, że tylko niektórzy chorzy (zależnie od rodzaju schorzenia i jego nasilenia) wykazują wyraźnie niższe aktywności. Miejscem syntezy większości enzymów osoczowych jest wątroba, zatem można przypuszczać, że niedobór aktywności może wynikać z upośledzenia syntezy białek w tkance wątrobowej objętej, niektórymi przynajmniej, procesami chorobowymi [27, 34, 37]. U chorych z upośledzeniem filtracji kłębuszkowej i nadmierną utratą białka przez nerki może dojść do filtrowania tego stosunkowo drobnocząsteczkowego białka

(35 kD). W efekcie zatem poziom białka, a więc i aktywności we krwi może się obniżać.

Równie uprawnione jest przypuszczenie, że aktywność enzymatyczna jest hamowana przez endogenne inhibitory wspólne dla obu aktywności, których produkcja i/lub działanie może się nasilać w określonych stanach chorobowych. Można też brać pod uwagę możliwość, że te białka (lub białko), mogą być kodowane przez ten sam gen. Powstające jedno białko enzymatyczne dopiero w trakcie modyfikacji posttranslacyjnej uzyskuje ostateczną konformację, co wyraża się różną lokalizacją centrum aktywnego w cząsteczce warunkującego odmienne preferencje substratowe.

Dla cholinesterazy jednym, ze znanych substratów endogennych jest acetylocholina. Niestety, brak jest informacji, co jest naturalnym endogennym substratem czy substratami esterazy aspirynowej. Aktywność esterazy aspirynowej jest zatem, z konieczności, oznaczana przy użyciu egzogenego substratu – aspiryny. Nie można jednak wykluczyć ewentualności, choć nie ma na to dowodów, że trwający już co najmniej 3500 lat kontakt człowieka z salicylanami, w tym aspiryną, doprowadził do wyewoluowania enzymu zdolnego katalizować hydrolizę tego związku.

Wnioski

1. Białko(a) posiadające aktywność esterazy aspirynowej i cholinesterazy silnie ze sobą korelują w wartościach aktywności.
2. Aktywność esterazy aspirynowej w surowicy krwi jest około dziesięć razy niższa niż aktywność cholinesterazy, zarówno u osób zdrowych jak i pacjentów.
3. Aktywność obu enzymów/enzymu są wyższe u dawców zdrowych w porównaniu do osób chorych.
4. Na podstawie uzyskanych wyników, można spekulować, że esteraza aspirynowa i cholinesteraza mogą być tym samym białkiem o dwóch centrach aktywnych.

Bibliografia

1. Vane JR. *Aspirin and Other Salicylates*. Chapman & Hall, London 1997.
2. Amon I, Zschiesche A, Amon K. *Distribution of Salicylic Acid and Hydrolysis of Acetylsalicylic Acid in Human Fetus in Early Pregnancy*. *Biom Biochem Acta*. 1983; 42: 997–1004.
3. Puche E, Gomez-Valverde E, Morillas G. *Postoperative Decline in Plasma Aspirin Esterase and Cholinesterase Activity in Surgical Patients*. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1993; 37: 20–22.

4. Szczeklik A, Stevenson DD. *Aspirin-induced Asthma: Advances in Pathogenesis and Management*. J Allergy Clin Immunol. 1999; 104: 5–13.
5. Szczeklik A. *Mechanism of Aspirin – Induced Asthma*. Allergy. 1997; 52: 613–619.
6. Barnes CJ, Hamby-Mason RL, Hardman WE et al. *Effect of Aspirin on Prostaglandin E2 Formation and Transforming Growth Factor Alpha Expression in Human Rectal Mucosa from Individuals with a History of Adenomatous Polyps of the Colon*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1999; 8: 311–315.
7. Goździalska A, Pajdak W. *Porównawcze badania aktywności esterazy aspirynowej i esterazy cholinowej w surowicy zdrowych dawców krwi*. Przegl Lek. 2001; 58: 843–844.
8. Grzelewska-Rzymowska I, Szmidt M, Rozniecki J et al. *Behavior of Esterase Inhibitor C1 in Patients with Urticaria Due to Aspirin Hypersensitivity*. Pneum i Alergol Pol. 1993; 61: 352–356.
9. Yuan CJ, Mandal AK, Zhang Z et al. *Transcriptional Regulation of Cyclooxygenase-2 Gene Expression: Novel Effects of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs*. Cancer Res. 2000; 60: 1084–1091.
10. Moshfeh K, Redondo M, Julmy F et al. *Antiplatelet Effects of Clopidogrel Compared with Aspirin after Myocardial Infraction: Enhanced Inhibitory Effects of Combination Therapy*. J Am Coll Cardiol. 2000; 36: 699–705.
11. Rylance HJ, Wallace RC. *Drug Inhibition of Whole Blood Aspirin Esterase*. Br J Clin Pharm. 1980; 9: 520–521.
12. Sack ES, Quiroga E. *The Variability of Platelet – Collagen Interaction. Its Influence on Aspirin – Induced Inhibition of Platelet Aggregation*. Throm and Haemost. 1976; 35: 658–668.
13. Szczeklik A, Krzanowski M, Gora P. *Antiplatelets Drugs and Generation of Thrombin in Clotting Blood*. Blood. 1992; 80: 2006–2011.
14. Trnavsky K, Zachar M. *Some Aspect of the Role of Aspirin-Esterase in the Metabolism of Salicylate (author's transl)*. Cas Lek Cesk. 1975; 114: 1258–1260.
15. Cham BE, Ross-Lee LR, Bochner F. *Measurement and Pharmacokinetics of Acetylsalicylic Acid by a Novel High Performance Liquid Chromatographic Assay*. Therapeutic Drug Monitoring. 1980; 2: 365–372.
16. Konstantianos GD, Ioannou PC. *Simultaneous Determination of Acetylsalicylic Acid and its Major Metabolites in Human Serum by Second-Derivative Synchronous Fluorescence Spectrometry*. Analyst. 1992; 117: 877–882.
17. Landecker KD, Wellington JE, Thomas JH. *Aspirin and Related Drugs: Their Action and Uses*. Agents and Action-Suppl. 1977; 1: 71.
18. Landecker KE, Wellington JE, Thomas JH et al. *Gastric Ulcer, Aspirin Esterase and Aspirin*. Agents and Actions-Suppl. 1977; 1: 71–79.
19. Rainsford KD, Ford NL, Brooks PM et al. *Plasma Aspirin Esterases in Normal Individuals, Patients with Alcoholic Liver Disease and Rheumatoid Arthritis: Characterization and Importance of the Enzymatic Components*. Eur J Clin Invest. 1980; 10: 413–420.
20. Lopez AA., Dawson C, Gonzales C et al. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics in Copper Deficiency. I. Antiinflammatory Activity of Aspirin*. Biol Trace Elem Res. 1994; 40: 161–176.
21. O'Brien JR. *Effects of Salicylate on Human Platelets*. Lancet. 1968; 1: 1431.

22. Williams FM. *Clinical Significance of Esterases in Man*. Clinical Pharmacokinetics. 1985; 10: 392–403.
23. Aarons L, Clifton P, Fleming G. *Aspirin Binding and the Effect of Albumin on Spontaneous and Enzyme-Catalyzed Hydrolysis*. J of Pharm & Pharmacol. 1980; 32: 537–538.
24. Lee S, Johnson D, Klein J, Eppler J. *Protein Binding of Acetylsalicylic Acid in Porcine and Human Serum*. Vet. & Human Toxicol. 1995; 37: 224–225.
25. Ebong PE, Eyong EU, Udosen EO. *Effects of Aspirin (Acetylsalicylic Acid) and Cataflam (Potassium Diclofenac) on Some Biochemical Parameters in Rats*. Afr J Med Sci. 1998; 27: 243–246.
26. Garcia-Sastre A, Villar E, Manuguruerra JC et al. *Activity Of Influenza C – Virus O – Acetyltransferase With O – Acetyl Contacting Compounds*. Bioch J. 1991; 273: 35–441.
27. www.expasy.proteome.org.au/cgi-bin/enzyme-search-ec.
28. Inoue M, Morikawa M, Tsuboi M. *Hydrolysis of Ester-Type Drugs by the Purified Esterase from Human Intestinal Mucosa.*, Jpn J Pharmacol. 1979; 29: 17.
29. Farombi EO, Nwankwo JO, Wara SH et al. *Chloramphenicol and Ampicillin-Induced Changes in Rat Hepatic Esterase and Amidase Activities*. Biosci Rep. 2000; 20: 13–19.
30. Gupta JD, Gruca M, Ablett W. *Effect of Other Drugs and Chemicals on the Degradation of Aspirin in Vitro: Possible Extrapolation to in Vivo Metabolism of Aspirin*. Eur J Drug Metab Pharmacokinet. 1979; 4: 103–108.
31. Inoue M, Morikawa M, Tsuboi M et al. *Comparative Study of Human Intestinal and Hepatic Esterases as Related to Enzymatic Properties and Hydrolyzing Activity for Ester – Type Drugs*. Jpn J Pharmacol. 1980; 30: 529–535.
32. La Du B. *Plasma Esterase Activity and the Metabolism of Drugs with Ester Group*. Annals New York Academy of Sciences. 1968; 8: 684–694.
33. White KN, Hope DB. *Identification of Aspirinase with One of the Carboxylesterases Requiring A Thiol Group*. Biochem J. 1981; 197: 771–773.
34. NiceZyme View of ENZYME: EC.3.1.1.55.
35. White KN, Hope DB. *Characterization of Aspirin Hydrolase of Guinea-pig Liver Cytoplasm*. Biochim Biophys Acta. 1984; 785: 132–137.
36. Builder J, Landecker K, Whitecross D. *Aspirin Esterase of Gastric Mucosal Origin*. Gastroenterology. 1977; 73: 15–18.
37. Enzyme, www.expasy.hcuge.ch/cgi-bin/get-enzyme-entry?3.1.1.
38. Sorensen S. *Improved Measurement of Acetylsalicylic Acid Esterase in Serum*. Clinical Chemistry. 1983; 29: 491–494.
39. Pajdak W, Goździalska A, Hebda K. *Activity Stain for the Detection of Aspirin Esterase in Polyacrylamide Gel*. Scand J Clin Lab Invest Suppl. 1998; 228: 58.
40. Pajdak W, Goździalska A. *Comparision of Aspirin Esterase (EC 3.1.1.55) And Cholinesterase (EC 3.1.1.8) Activities in Human Serum – Biochemical and Immunochemical Properties of two Enzymes*. FEBS J. 2001; 268, Suppl 1, 342 (27th FEBS Meeting with Pan – American Association for Biochemistry and Molecular Biology, Lisbon Portugal).
41. Pucho E, Garcia Morillas M, Garcia de la Serrana H et al. *Probable Pseudocholesterase Induction by Valproic Acid, Carbamazepine and Phenytoin Leading to*

- Increased Serum Aspirin-Esterase Activity in Epileptics*. Int J Clin Pharmacol Res. 1989; 9: 309–311.
42. Summerbell J, Yelland C, Woodhouse K. *The Kinetics of Plasma Aspirin Esterase in Relation to Old Age and Frailty*. Age & Ageing. 1990; 19: 128–130.
 43. Williams FM, Wynne H, Woodhouse KW. *Plasma Aspirin Esterase: The Influence of Old Age and Frailty*. Age & Ageing. 1989; 18: 39–42.
 44. White KN, Eggermont J, Hope DB. *Effect of the Carboxylesterase Inhibitor Bis-(4-Nitrophenyl) Phosphate in Vivo on Aspirin Hydrolase And Carboxylesterase Activities at First-Pass Sites of Metabolism in the Guinea Pig*. Biochem Pharmacol. 1987; 36: 1687–1688.
 45. Das KK, Dasgupta S. *Influence of Ascorbic Acid and Alkaline Phosphatase Activities in Some Metabolically Active Tissues of Aspirin Treated Rats*. Indian J of Phys & Pharmacol. 1997; 41: 421–423.
 46. Marzo A, Mancinelli A, Cardace G, Monti N et al. *NaF and Two Other Esterase Inhibitors Unaffected Acetyl Salicylic Acid Enzyme Hydrolysis*. J Pharm Pharmacol. 1992; 44: 786.
 47. Ryllance HJ., Wallace RC. *Erythrocyte and Plasma Aspirin Esterase*. Br J Clin Pharmacol. 1981; 12: 436–438.
 48. Kim DH, Yang YS, Jakoby WB. *Aspirin Hydrolyzing Esterases from Rat Liver Cytosol. Lab of Bioch and Metabol, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases*. National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892.
 49. Urushidani T, Okabe S, Takeuchi K et al. *Strain Differences in Aspirin-Induced Gastric Ulceration in Rats*. Jpn J Pharmacol. 1978; 28: 569–578.
 50. Moralev SN. *Cholinesterase Active Sites. Statistical Analysis of the Structure Variability*. Zh Evol Biokhim Fiziol. 2001; 37: 21–27.
 51. Tecles F, Ceron JJ. *Determination of Whole Blood Cholinesterase in Different Animal Species Using Specific Substrates*. Res Vet Sci. 2001; 70: 233–238.
 52. Yamada M, Marui Y, Hayashi C et al. *New Thiocholine Ester Substrates for the Assay of Human Serum Cholinesterase*. Clin Chem. 2001; 47: 1962–1966.
 53. Masson P, Laurentie M. *Stability of Butyrylcholinesterase: Thermal Inactivation in Water and Deuterium Oxide*. Bioch Biophys Acta. 1988; 957: 111–121.
 54. Pardio VT, Ibarra N, Rodriguez MA et al. *Use of Cholinesterase Activity in Monitoring Organophosphate Pesticide Exposure of Cattle Produced in Tropical Areas*. J Agric Food Chem. 2001; 49: 6057–6062.
 55. Ellman GL. *Method of Detection Cholinesterase EC 3.1.1.7*. Biochem Pharmacol. 1961; 7: 88.
 56. Simeon-Rudolf V, Evans RT. *Interlaboratory Study into the Proficiency of Serum Cholinesterase Activity Measurement*. Arh Hig Rada Toksikol. 2001; 52: 299–305.
 57. Fluck RA, Jaffe MJ. *Cholinesterases from Plant Tissues. VI. Preliminary Characterization of Enzymes from Solanum melongena L. and Zea Mays L*. Bioch Biophys Acta. 1975; 20: 130–134.
 58. Williams FM, Asad SI, Lessof MH. *Plasma Esterase Activity in Patients with Aspirin-Sensitive Asthma or Urticaria*. European Journal of Clinical Pharmacology. 1987; 33: 387–390.
 59. Williams FM, Mutch E, Blain PG. *Esterase Activity in Rat Hapatocytes*. Bioch Pharmacol. 1991; 41: 527–531.

- 50 ANNA GOŹDZIALSKA, JERZY JAŚKIEWICZ, WŁADYSŁAW PAJDAK
60. Costello PB, Green FA. *Identification and Partial Purification of the Major Aspirin Hydrolyzing Enzyme in Human Blood*. *Arthrisms and Rheumatism*. 1983; 26: 541–547.
61. Morikawa M, Inoue M, Tsuboi M et al. *Studies of Aspirin Esterase of Human Serum*, *Jpn J Pharmacol*. 1979; 29: 581–586.
62. O'Mahoney MS, George G, Westlake H et al. *Plasma Aspirin Esterase Activity in Elderly Patient Undergoing Elective Hip Replacement and with Fractured Neck of Femur*. *Age and Ageing*. 1994; 23: 338–341.
63. Okumura H, Isoda K, Aramaki T et al. *Aspirin Esterase Activity Test as a New Liver Function Test*. *Saishin Igaku*. 1971; 26: 162–168.
64. Yin D, Jin H, Yu H, Chen L. *A Comparative Study on the Sensitivity and Specificity of Cholinesterase and Glutathione S-transferase in *Gammarus Pulex L.** *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*. 2001; 12: 615–618.
65. Abou-Hatab K, Ganeshalingam K, O'Mahony MS et al. *The Effect of Community-acquired Pneumonia on Plasma Esterases in Older People*. *Eur J Clin Pharmacol*. 2001; 57: 55–60.
66. Abou-Hatab K, O'Mahony MS, Patel S et al. *Plasma Esterase Activities in Young and Old Patients Undergoing Open Inguinal Hernia Repair*. *Arch Gerontol Geriatr*. 2000; 31: 193–198.
67. Abou-Hatab K, O'Mahony MS, Patel S et al. *Relationship between Age and Plasma Esterases*. *Age Ageing*. 2001; 30: 41–45.
68. Yelland C, Summerbell J, Nicholson E, *The Association of Age with Aspirin Esterase Activity in Human Liver*. *Age & Ageing*. 1991; 20: 16.
69. Goździalska A, Pajdak W. *Esteraza aspirynowa biochemiczne i kliniczne aspekty katabolizmu aspiryny*. *Przeegl Lek*. 2001; 58: 517–520.

Comparison of Aspirin Esterase and Cholinesterase Activity in Groups of Healthy and Sick Persons

Abstract: Aspirin esterase (EC 3.1.1.55) is an enzyme that catalyzes the hydrolysis of aspirin (acetylsalicylic acid) to salicylic acid and acetic acid. Aspirin esterase is present in the liver, the plasma and red blood cells. It is widely believed that aspirin esterase is different from carboxylesterase (EC 3.1.1.1), arylesterase (EC 3.1.1.7) and cholinesterase (EC 3.1.1.8). Cholinesterase is present in many tissues as well as in the blood. There are many similarities between aspirin esterase and cholinesterase. According to some authors, these two enzymes are identical. The activity of aspirine esterase as well as cholinesterase were measured in 106 serum samples from healthy blood donors and the 120 serum samples of patients, the activity expressed in $\mu\text{kat/L}$. There are positive correlation between these two enzymes. The activities of aspirin esterase were always approximately 10-times lower than the activity of cholinesterase. The results indicate that there are two different activities, though not necessarily of two different proteins. It may be considered that the enzyme molecule has two independent active sites. Elucidation of the molecular basis of the similarities and differences of these two (?) enzymes will be explained by us in the next future.

Key words: aspirine esterase, cholinesterase