



## บทความพื้นฟูวิชาการ ออนไลน์ สำหรับการศึกษาดูเรื่องทางเภสัชศาสตร์

### กลไกระดับโมเลกุลของเกล็ดเลือดที่มีต่อการเกิดลิ่มเลือดและยาต้านเกล็ดเลือด

### Molecular mechanism of platelets in thrombosis and antiplatelet agents

บุษบา เผ่าทองจีน

สาขาวิชาชีวการแพทย์และสารสนเทศศาสตร์ทางสุขภาพคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ นครปฐม

\* ติดต่อผู้พิมพ์: Powthongchin\_b@su.ac.th

Department of Biomedical and Health informatics, Faculty of Pharmacy, Silpakorn

University, Sanam Chandra Palace Campus, Nakorn Pathom

\* Corresponding author: Powthongchin\_b@su.ac.th

#### วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. เพื่อให้ทราบถึงชนิดของ ligands ที่มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นเกล็ดเลือด
2. เพื่อให้ทราบถึงชนิดของตัวรับที่สำคัญบนผิวของเกล็ดเลือด
3. เพื่อให้เข้าใจวิธีการส่งสัญญาณในการกระตุ้นเกล็ดเลือดจนทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด
4. เพื่อให้ทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์ของยาต้านเกล็ดเลือดที่มีการใช้อยู่ในปัจจุบัน

#### บทคัดย่อ

การกระตุ้นเกล็ดเลือดและการทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดนั้นเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดลิ่มเลือดในหลอดเลือดซึ่งอาจทำให้เกิดพยาธิสภาพได้ เมื่อหลอดเลือดเกิดบาดแผลจะเกิดการกระตุ้นเกล็ดเลือดโดยเริ่มจากการจับของ ligands หลายชนิดทั้งที่เป็น adhesive proteins และ soluble platelet agonists เข้ากับตัวรับบนผิวของเกล็ดเลือดที่สำคัญ เช่น GPIb/IX/V, GPVI, integrin  $\alpha 2\beta 1$ , integrin  $\alpha IIb\beta 3$ , P2Y purinoceptor, thromboxane prostanoid receptor, และ proteinase-activated receptor ซึ่งจะกระตุ้นให้เกิดการส่งสัญญาณภายในเซลล์และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเกล็ดเลือด การหลั่งสารที่กระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดจนเกิดเป็นลิ่มเลือด รวมถึงการกระตุ้นให้เกิดการแข็งตัวของเลือด กลไกที่เกิดขึ้นเหล่านี้เป็นเป้าหมายสำคัญของการออกฤทธิ์ของยาต้าน

เกล็ดเลือดหลายกลุ่มซึ่งนำมาใช้ในการป้องกันและรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับการเกิดลิ่มเลือดอุดตันในหลอดเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

**คำสำคัญ:** เกล็ดเลือด, ตัวรับบนผิวของเกล็ดเลือด, ยาด้านเกล็ดเลือด, Thromboxane A<sub>2</sub>, Thrombin, P2Y purinoceptor, proteinase-activated receptor

## บทนำ

เกล็ดเลือด (platelet) เป็นองค์ประกอบหนึ่งของเลือดที่ปกติมีบทบาทหลักในกระบวนการห้ามเลือด (hemostasis) เมื่อเกิดบาดแผลขึ้นในร่างกายจะกระตุ้นให้มีการเกิดลิ่มเลือด (thrombosis) เพื่อทำให้เกิดการอุดกั้นบาดแผลและป้องกันไม่ให้เลือดไหลออกจากหลอดเลือดที่ฉีกขาด กระบวนการที่เกิดขึ้นนี้จัดเป็น physiological thrombosis หรือ protective hemostasis แต่ในทางตรงกันข้ามหากมีการเกิดลิ่มเลือดขึ้นในหลอดเลือดไม่ว่าจากสาเหตุใดก็ตามที่ไม่สามารถควบคุมได้ก็อาจทำให้เกิดพยาธิสภาพขึ้น โดยในกรณีนี้จัดเป็น pathological thrombosis และเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดลิ่มเลือดอุดตันในระบบไหลเวียนโลหิต ซึ่งจะส่งผลทำให้เกิดภาวะเนื้อเยื่อขาดเลือดมาเลี้ยง (ischemia) เกิดการขาดออกซิเจนและเนื้อเยื่อตายได้ เช่น หากเกิดลิ่มเลือดอุดตันในหลอดเลือดแดงที่ไปเลี้ยงหัวใจ (coronary artery thrombosis) ก็จะทำให้เกิดกล้ามเนื้อหัวใจตายจากการขาดเลือด (myocardial infarction) หรือหากลิ่มเลือดอุดตันในหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงสมอง (cerebral thrombosis) ก็จะทำให้เกิดโรคหลอดเลือดสมอง (stroke)<sup>1,2,3</sup> โดยมีหลักฐานที่ค่อนข้างแน่ชัดว่าเกล็ดเลือดมีส่วนเกี่ยวข้องในการเกิดภาวะลิ่มเลือดอุดตันหลอดเลือด (atherothrombosis) ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิต พบว่าการเสียชีวิตด้วยภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดเฉียบพลัน (acute myocardial infarction) เกิดขึ้นเป็นอันดับต้น ๆ ในประเทศที่พัฒนาแล้ว<sup>4</sup> สำหรับในกรณีของ pathological thrombosis นั้นหากได้รับยาต้านเกล็ดเลือดจะช่วยยับยั้งการเกิดลิ่มเลือดอันจะช่วยป้องกันโรคที่เกิดจากลิ่มเลือดอุดตันหลอดเลือดได้

พบว่าเมื่อหลอดเลือดฉีกขาด หรือเกิดบาดแผลขึ้นในหลอดเลือด เช่น จากการแตกออกของก้อนไขมัน (plaque) ในผนังของหลอดเลือดทำให้มีเลือดไหลออกจากบาดแผล ร่างกายจะมีกลไกในการห้ามเลือดโดยผ่านการกระตุ้นเกล็ดเลือด (platelet activation) ซึ่งเป็นขั้นตอนสำคัญที่เกิดขึ้นทั้งในส่วน of protective hemostasis และ pathological thrombosis และจากการศึกษาในระดับโมเลกุลพบว่ากระบวนการนี้ซับซ้อนและเกิดผ่านหลายวิถีทาง โดยจะถูกกระตุ้นจากการจับของสารกระตุ้นการทำงานต่าง ๆ ของเกล็ดเลือดกับตัวรับ (receptor) ซึ่งมีอยู่หลายชนิดบนผิวของเกล็ดเลือด แล้วเกิดการส่งสัญญาณภายในเซลล์ (signaling pathway) ทำให้มีการหลั่งสารต่าง ๆ ออกมาจากเกล็ดเลือดเพื่อกระตุ้นให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดและทำให้เกิดการแข็งตัวของเลือด

บทความนี้มีวัตถุประสงค์ในการรวบรวมความรู้ที่เป็นปัจจุบันในส่วนของกลไกการกระตุ้นเกล็ดเลือด การเกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในระดับโมเลกุล โดยเฉพาะบทบาทของตัวรับบนผิวของเกล็ดเลือด รวมถึง signaling pathways ต่าง ๆ ซึ่งจัดเป็นเป้าหมายหลักในการออกแบบยาต้านเกล็ดเลือด (antiplatelet aggregation หรือ antiplatelet agents) เพื่อนำมาใช้ในการรักษาโรคกลุ่ม atherothrombotic vascular diseases เช่น acute coronary syndromes (ACS), stable coronary artery disease (CAD), peripheral artery disease (PAD), ischemic stroke และ transient ischemic attack (TIA) เป็นต้น<sup>5,6</sup> นอกจากนี้ในบทความนี้จะกล่าวถึงกลไกของยาต้านเกล็ดเลือดกลุ่มต่างๆ รวมทั้งความแตกต่างทางพันธุกรรมของบุคคลที่มีผลต่อประสิทธิภาพของยาต้านเกล็ดเลือดโดยเฉพาะยา clopidogrel ด้วย

## เกล็ดเลือด

เกล็ดเลือดเป็นชิ้นส่วนของเซลล์ megakaryote ที่สร้างจากไขกระดูกแดง ไม่มีนิวเคลียส มีขนาดเล็ก (เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2–5  $\mu\text{m}$  หนาประมาณ 0.5  $\mu\text{m}$ ) ภายในเกล็ดเลือดประกอบด้วย cytoskeleton, dense tubular system, มี mitochondria จำนวนไม่มาก และมี granules หลายชนิด เช่น  $\alpha$ -granules, dense ( $\delta$ ) granules, glycogen granules และ peroxisomes

ภายใน  $\alpha$ -granules บรรจุโปรตีนหลายชนิดทั้งที่เป็น adhesive proteins ขนาดใหญ่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องในกระบวนการกระตุ้นเกล็ดเลือด เช่น von Willebrand Factor (vWF), TSP1, vitronectin, และ fibronectin กลุ่มที่เป็น mitogenic factors เช่น PDGF, VEGF, และ TGF $\beta$  กลุ่มที่เป็น coagulation factors เช่น factors V, VII, XI, และ XIII และกลุ่มที่เป็น protease inhibitors เช่น protein C, PAI-1, และ TFPI นอกจากนี้ยังรวมถึง glycoprotein (GP) IIb/IIIa ด้วย ส่วนภายใน dense ( $\delta$ ) granules นั้นบรรจุ nucleotides (adenosine diphosphate, ADP และ adenosine triphosphate, ATP), serotonin, histamine, pyrophosphate และ calcium เป็นต้น<sup>4,7,8</sup>

ในคนปกติจะมีปริมาณเกล็ดเลือดไหลเวียนอยู่ในเลือดประมาณ  $150\text{--}400 \times 10^9$  ต่อลิตร โดยเกล็ดเลือดมีอายุสั้นเพียง 7-10 วัน<sup>4,7,8</sup> ปกติเกล็ดเลือดจะไม่เปลี่ยนแปลงรูปร่างโดยอยู่ในรูป resting discoid forms และไม่จับกับหลอดเลือด เพราะในหลอดเลือดปกติจะไม่เกิดการกระตุ้นเกล็ดเลือดเนื่องจากบริเวณผิวหน้าของเยื่อผิวหลอดเลือดนั้นมีลักษณะเรียบและลื่นทำให้เกล็ดเลือดไม่สามารถเกาะหรือจับได้ และเซลล์เยื่อผิวเหล่านี้ยังหลั่งสาร prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) และ nitric oxide (NO) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด (platelet inhibitors) โดย PGI<sub>2</sub> ออกฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ adenylate cyclase ส่วน NO ออกฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ guanylate cyclase ทำให้ระดับของ cyclic adenosine monophosphate (cAMP) และ cyclic guanosine monophosphate (cGMP) เพิ่มขึ้น

ตามลำดับ ปริมาณ cyclic mononucleotides ที่เพิ่มขึ้นนี้มีผลทำให้การสร้าง inositol triphosphate (IP3) ลดลง และลดการหลั่ง calcium จึงทำให้การกระตุ้นเกล็ดเลือดลดลง นอกจากนี้ยังมี adenosine ซึ่งเป็น nucleoside ที่หลังจากเซลล์ที่ถูกทำลาย หรือได้จากการที่เอนไซม์ ecto-ADPase (ecto-nucleotidase) CD39 ที่อยู่บนผิวของเซลล์เยื่อบุผิวหลอดเลือดย่อย ADP โดย adenosine มีฤทธิ์ยับยั้งการกระตุ้นเกล็ดเลือดผ่านทางกระตุ้น Gs-coupled adenosine A<sub>2A</sub> receptor<sup>2,3,7</sup>

เมื่อมีบาดแผลเกิดขึ้นที่หลอดเลือดจะทำให้เนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้ชั้นเซลล์เยื่อบุผิวหลอดเลือด (subendothelial extracellular matrix) เปิดออก ซึ่ง matrix นี้จะประกอบด้วย adhesive proteins เช่น collagen, vWF, laminin, fibronectin และ thrombospondin เป็นต้น โดย adhesive proteins เหล่านี้จะเป็น ligands ที่สามารถจับกับตัวรับชนิดต่าง ๆ บนผิวของเกล็ดเลือดที่ต่างกันไป จึงทำให้เกล็ดเลือดที่ไหลเวียนอยู่ในกระแสเลือดมาจับกับ adhesive proteins เหล่านี้ได้<sup>4,7,8</sup>

### ตัวรับบนผิวของเกล็ดเลือด (platelet surface receptors)<sup>2,4,6,8-11</sup>

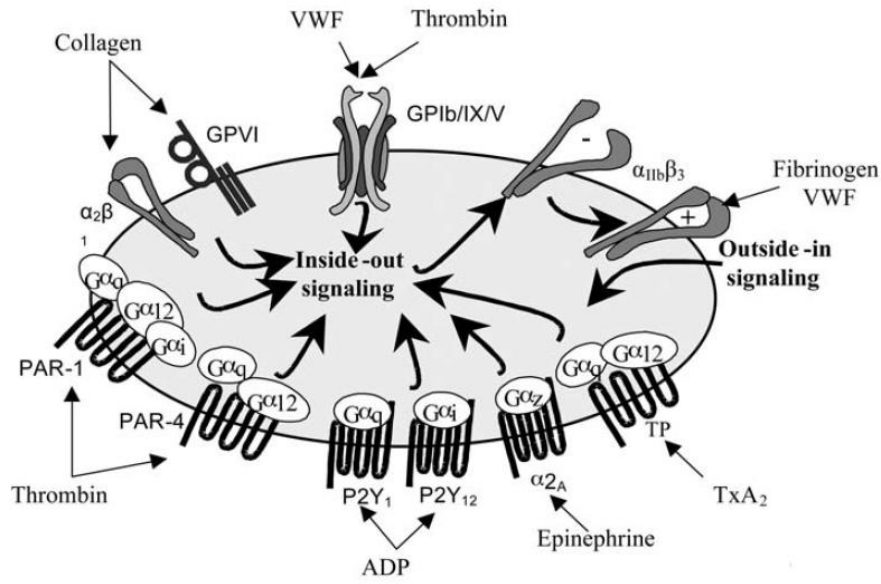
การที่เกล็ดเลือดจะมาจับและเกาะกลุ่มกันนั้นเกิดจากการที่มี ligands ทั้งที่เป็น adhesive proteins และเป็นสารกลุ่ม soluble platelet agonists มาจับกับตัวรับบนผิวของเกล็ดเลือดแล้วกระตุ้นการทำงานของเกล็ดเลือด โดยตัวรับบนผิวของเกล็ดเลือดนั้นมีหลากหลายชนิด แต่ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะตัวรับสำคัญที่มีบทบาทในการกระตุ้นเกล็ดเลือดเท่านั้น (รูปที่ 1) โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ

#### 1. ตัวรับสำหรับ adhesion proteins

ส่วนใหญ่เป็นสารจำพวกไกลโคโปรตีน (glycoprotein, GP) ได้แก่

**1.1 GPIb/IX/V complex** เป็นตัวรับที่จับกับ vWF ซึ่งอยู่บนผิวของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เป็น extracellular matrix หรือจับกับ vWF ที่ยึดติดอยู่กับ collagen บริเวณบาดแผลที่มีการฉีกขาดของหลอดเลือด

vWF เป็นไกลโคโปรตีนที่สร้างมาจากหลายแหล่ง โดยส่วนหนึ่งสร้างจากเซลล์เยื่อบุผิวของหลอดเลือด และเซลล์ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ค้ำจุนเยื่อบุผิวของหลอดเลือด ซึ่ง vWF เหล่านี้จะปรากฏอยู่บนผิวของเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ vWF ยังถูกสร้างมาจาก megakaryocytes โดยเก็บไว้ใน  $\alpha$ -granules ของเกล็ดเลือด เมื่อเกล็ดเลือดถูกกระตุ้นจะเกิดการหลั่ง vWF ออกมาจาก granules ไหลเวียนอยู่ในกระแสเลือด เมื่อผ่านไปพบกับบริเวณบาดแผลที่เปิดออกจึงไปจับยึดอยู่บน collagen



รูปที่ 1 ตัวรับบนผิวของเกล็ดเลือด<sup>2</sup>

1.2 Collagen receptors เป็นตัวรับที่จับกับ collagen บริเวณบาดแผลที่เปิดออก มี 2 ชนิด คือ

1.2.1 GP VI เป็นตัวรับที่จับกับ collagen แต่เป็นการจับที่ไม่แน่น (low affinity)

GP VI อยู่ในกลุ่ม immunoglobulin superfamily โดยเชื่อมต่อกับ Fc receptor  $\gamma$  (FcR $\gamma$ )

1.2.2 integrin  $\alpha_2\beta_1$  (GPIa/IIa) เป็นตัวรับที่จับกับ collagen type I และ III ซึ่งเป็นชนิดที่มีความสามารถสูงที่สุดในการจับกับเกล็ดเลือด

เมื่อ integrin  $\alpha_2\beta_1$  จับกับ collagen จะมีผลช่วยให้ GPVI จับกับ collagen ได้แน่นขึ้น และยังมีผลกระตุ้นการเปลี่ยนรูปร่าง (conformation) ของ integrin  $\alpha_{IIb}\beta_3$  ให้อยู่ในรูปแบบที่สามารถจับกับ ligands ได้

1.3 integrin  $\alpha_{IIb}\beta_3$  (GPIIb/IIIa) เป็นตัวรับที่จับกับ free fibrinogen หรือ vWF ซึ่งจะทำให้หน้าที่เป็นสะพานเชื่อมประสานระหว่างโมเลกุลของเกล็ดเลือดเข้าด้วยกัน จึงทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด (platelet-to-platelet aggregation) พบว่าตัวรับชนิดนี้มีจำนวนมากที่สุดบนผิวของเกล็ดเลือด (ประมาณ 40,000-80,000 copies ต่อหนึ่งเกล็ดเลือด) จึงถือได้ว่า integrin  $\alpha_{IIb}\beta_3$  นี้เป็นตัวรับหลักในการทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด<sup>8</sup>

สำหรับเกล็ดเลือดที่ไหลเวียนในเลือดทั่วไปนั้น โครงสร้างของ integrin  $\alpha_{IIb}\beta_3$  จะอยู่ในรูป inactive แต่เมื่อเกล็ดเลือดถูกกระตุ้นจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างให้อยู่ในรูปที่ active สามารถจับกับ ligands เช่น fibrinogen หรือ vWF ได้

## 2. ตัวรับสำหรับ soluble platelet agonists

มีลักษณะเป็น seven-transmembrane domain G protein-coupled receptors (GPCRs) โดยมีตัวรับที่สำคัญ ได้แก่

**2.1 P2Y purinoceptor** เป็นตัวรับที่มี ADP เป็น agonist โดยที่สำคัญ ได้แก่

**2.1.1 P2Y<sub>1</sub>** มีโครงสร้างเป็น GPCRs ที่มีหน่วยย่อยเป็น G $\alpha$ <sub>q</sub>

**2.1.2 P2Y<sub>12</sub>** มีโครงสร้างเป็น GPCRs ที่มีหน่วยย่อยเป็น G $\alpha$ <sub>i</sub> พบว่าบนผิวของเกล็ดเลือดจะพบ P2Y<sub>12</sub> เป็นส่วนใหญ่ ทำให้ P2Y<sub>12</sub> เป็นเป้าหมายหลักในการออกฤทธิ์ของยายับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด โดย ADP นั้นถูกหลั่งมาจาก dense ( $\delta$ ) granules ของเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้น (activated platelets) จัดเป็นสารที่ช่วยกระตุ้นให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่มีประสิทธิภาพสูงมาก

**2.2 Thromboxane prostanoid (TP) receptor** เป็นตัวรับที่มี thromboxane A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>) เป็น agonist โดยมีโครงสร้างเป็น GPCRs ที่มีหน่วยย่อยเป็น G $\alpha$ <sub>q</sub>

TxA<sub>2</sub> ถูกสังเคราะห์ขึ้นภายในเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase (COX) และ thromboxane synthase ตามลำดับ โดย TxA<sub>2</sub> นั้นมีฤทธิ์ที่สำคัญสองอย่าง คือ ทำให้หลอดเลือดหดตัว และเป็นสารที่กระตุ้นให้มีการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่มีประสิทธิภาพสูงเช่นเดียวกับ ADP

**2.3 Proteinase-activated receptor (PAR) หรือ Thrombin receptor** เป็นตัวรับที่มี thrombin เป็น agonist พบได้ 4 ชนิด คือ PAR-1, -2, -3 และ -4 โดยเกล็ดเลือดของมนุษย์จะพบ PAR-1 เป็นหลัก ตัวรับ PAR นี้มีโครงสร้างเป็น GPCRs ที่มีหน่วยย่อยเป็น G $\alpha$ <sub>q</sub>, G $\alpha$ <sub>12</sub>, G $\alpha$ <sub>i</sub>

เมื่อ thrombin จับกับตัวรับ PAR-1 และ PAR-4 จะเกิดการย่อย extracellular loop ส่วนต้นของตัวรับเหล่านี้ ทำให้เกิดปลาย N- ใหม่ เป็น SFLLR และ GYPGQV สำหรับ PAR-1 และ PAR-4 ตามลำดับ ซึ่งจะทำหน้าที่เป็น ligands จับและกระตุ้นตัวรับทำให้เกิด signaling ต่อไป โดย thrombin มีประสิทธิภาพสูงในการกระตุ้นให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดได้ พบว่าในการกระตุ้น PAR-1 ใช้ thrombin ในความเข้มข้นที่ต่ำกว่าความเข้มข้นที่ใช้ในการเกิด coagulation cascade เป็นอย่างมาก ส่วนในการกระตุ้น PAR-2 จะใช้ความเข้มข้นที่สูงกว่าที่ใช้ในการกระตุ้น PAR-1

**2.4 5-hydroxytryptamine 2A (5HT<sub>2A</sub>) receptor** เป็นตัวรับที่มี serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) เป็น agonist โดยมีโครงสร้างเป็น GPCRs ที่มีหน่วยย่อยเป็น G $\alpha$ <sub>q</sub> มีฤทธิ์กระตุ้นให้เกล็ดเลือดมาয়งบริเวณบาดแผลและเกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดได้เช่นเดียวกับ ADP

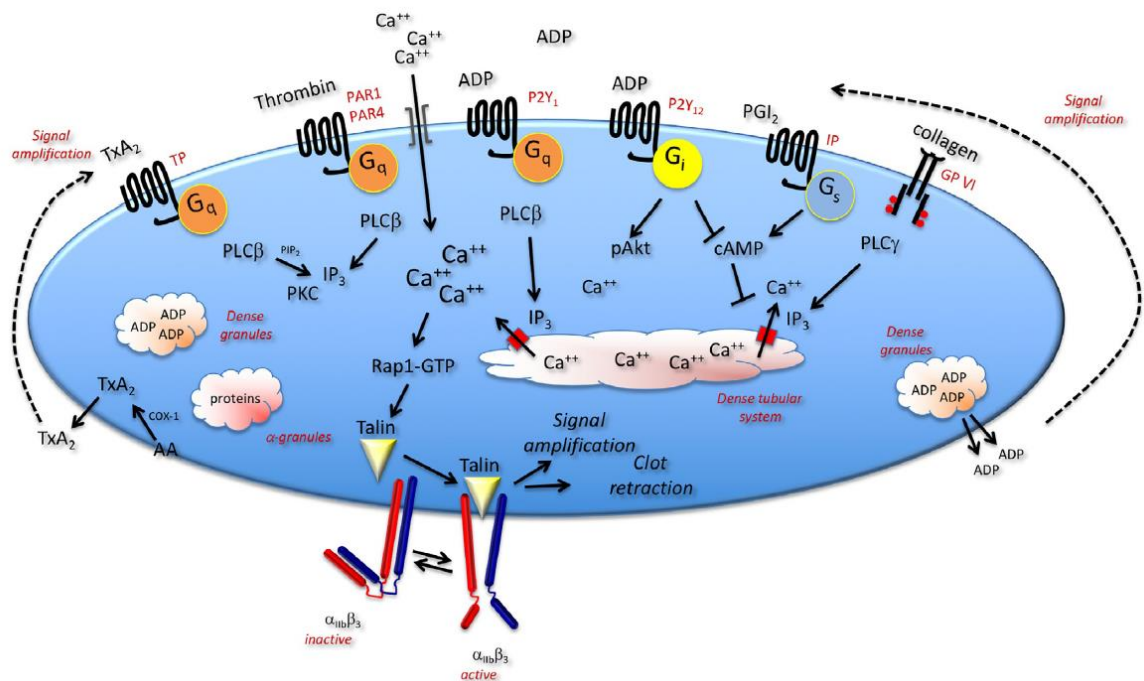
ตัวรับในกลุ่ม soluble platelet agonists นี้มีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิด positive feedback loops สำหรับการกระตุ้นเกล็ดเลือดแบบต่อเนื่อง ทำให้เกล็ดเลือดมาเกาะกลุ่มกันมากขึ้น

Signal transduction ภายในเกล็ดเลือด<sup>1,2,4-6,8-11,13</sup>

เมื่อตัวรับบนผิวของเกล็ดเลือดจับกับ ligands ชนิดต่าง ๆ แล้ว จะเกิดการส่งสัญญาณภายในเซลล์ต่อเนื่องกันหลายขั้นตอน จนกระทั่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับ second messengers ภายในเซลล์ โดยการส่งสัญญาณภายในเซลล์เกิดขึ้นในรูปแบบต่าง ๆ (รูปที่ 2) ดังนี้

## 1. Signal transduction ผ่าน adhesion proteins เช่น vWF, collagen

หลังจากที่เกล็ดเลือดจับกับ vWF โดยผ่าน GPIb/IX/V และจับกับ collagen โดยผ่าน integrin  $\alpha 2\beta 1$  และ GPVI แล้ว จะเกิดการกระตุ้นเกล็ดเลือด โดยมีการส่งสัญญาณผ่าน GPVI ที่เชื่อมกับ Fc $\gamma$  chain ภายในเกล็ดเลือด มีการกระตุ้น phospholipase C $\gamma$ 2 (PLC $\gamma$ 2) และกระตุ้น downstream signaling pathways แบบต่อเนื่อง เช่นเดียวกับการกระตุ้น G $\alpha$ q-coupled receptors ดังจะกล่าวถึงต่อไป



รูปที่ 2 Signaling pathways หลักที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นเกล็ดเลือด<sup>13</sup>

( AA, arachidonic acid; GP, glycoprotein; IP<sub>3</sub>, inositol- 1,4,5- triphosphate; PAR, protease- activated receptor; PGI<sub>2</sub>, prostaglandin I<sub>2</sub>; PKC, protein kinase C; PLC, phospholipase C; TxA<sub>2</sub>, thromboxane A<sub>2</sub>)

## 2. Signal transduction ผ่าน G-protein coupled receptors

สำหรับ soluble platelet agonists เช่น ADP, TxA<sub>2</sub>, serotonin (5-HT) และ thrombin เมื่อจับกับตัวรับที่เป็น G-protein coupled receptors จะกระตุ้น signaling pathways โดย

### 2.1 การกระตุ้นผ่าน G $\alpha$ q

เมื่อ ADP จับกับตัวรับ P2Y<sub>1</sub>, TxA<sub>2</sub> จับกับตัวรับ TP, 5-HT จับกับตัวรับ 5HT<sub>2A</sub>, thrombin จับกับตัวรับ PAR-1 และ PAR-4 ซึ่งเป็น G $\alpha$ q-coupled receptors ทำให้เกิดการกระตุ้น phospholipase C $\beta$ 2 (PLC $\beta$ 2)

การกระตุ้น PLC $\gamma$ 2 จากข้อ 1 และ PLC $\beta$ 2 จากข้อ 2.1 จะไปกระตุ้นการ hydrolysis ของ phosphatidyl inositol 4,5-bisphosphate (PIP<sub>2</sub>) ได้เป็น 1,2-diacylglycerol (DAG) และ inositol-1,4,5-triphosphate (IP<sub>3</sub>) แล้วทำให้เกิด Ca<sup>2+</sup> mobilization ออกมาจาก dense tubular system ของเกล็ดเลือด ทำให้ระดับของ calcium ภายในไซโทพลาซึมของเกล็ดเลือดเพิ่มขึ้น ซึ่งจะมีผลต่อกระบวนการหลายอย่าง โดย calcium จะไปกระตุ้นเอนไซม์ kinases หลายชนิด เช่น myosin light chain kinase ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเกล็ดเลือดจาก resting discoid shape ไปเป็น active shape อย่างรวดเร็ว และ calcium ยังกระตุ้นเกล็ดเลือดให้มีการหลั่งสารต่าง ๆ ออกมาจาก granules (เกิด degranulation) เช่น ADP และ TxA<sub>2</sub> ซึ่งเป็นสารสำคัญที่ช่วยกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดให้เพิ่มขึ้นเป็นอย่างมากด้วย นอกจากนี้ calcium ยังมีผลในการกระตุ้น Rap1b ซึ่งมีผลต่อเนื่องโดยในที่สุดทำให้เกิดการกระตุ้น integrin  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 ให้เปลี่ยนจาก inactive form เป็น active form ที่จับกับ ligands ได้ แล้วทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดแบบผันกลับได้ และยังพบว่าใน signaling pathway นี้ยังมีผลกระตุ้น phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) อีกด้วย ซึ่งมีผลให้เพิ่มการหลั่ง arachidonic acid (AA) ที่เป็นสารตั้งต้นสำหรับการสร้าง TxA<sub>2</sub> ทำให้มีปริมาณ TxA<sub>2</sub> ที่จะไปกระตุ้นเกล็ดเลือดได้เพิ่มขึ้น

ส่วน Thrombin นั้นนอกจากจับกับ PAR-1 และ PAR-4 แล้ว ยังมีการส่งสัญญาณผ่าน GPIIb/IX/V และ G $\alpha$ 12/13- ทำให้มีผลช่วยในเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเกล็ดเลือดอีกด้วย

### 2.2 การกระตุ้นผ่าน G $\alpha$ i

เมื่อ ADP จับกับตัวรับ P2Y<sub>12</sub> จะเกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ adenylate cyclase ซึ่งจะมีผลทำให้ระดับของ cAMP ลดลง (cAMP มีฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่แรง) จึงมีผลลดการยับยั้งการหลั่ง calcium ทำให้ระดับ calcium ในเกล็ดเลือดมากขึ้น และยังมีผลเพิ่มการกระตุ้น integrin  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 โดยการไปยับยั้ง Rap1b inactivation จึงเกิดการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดเป็นอย่างมากและเป็นการเกาะกลุ่มที่ค่อนข้างเสถียร นอกจากนี้ยังมีผลทำให้เกิดการหลั่งสารจาก granules เพิ่มมากขึ้นมาก



จะเห็นว่าเมื่อเกล็ดเลือดถูกกระตุ้นโดยการที่ adhesive proteins และ soluble platelet agonists ต่าง ๆ จับกับตัวรับบนผิวเกล็ดเลือดแล้ว จะเกิดการส่งสัญญาณผ่าน signaling pathways ที่ต่างกันในช่วงเริ่มต้น หลังจากนั้นจะเข้าสู่วิถีการส่งสัญญาณร่วมกัน (common signaling pathway) ซึ่งจะขยายขนาดสัญญาณในการทำให้เกิดการตอบสนองของเกล็ดเลือดมากขึ้น โดยมีผลสุดท้ายทำให้เกิด 1) เพิ่มระดับ calcium ในไซโทพลาซึมของเกล็ดเลือด 2) เพิ่มการหลั่งสารจาก granules 3) เพิ่มการสังเคราะห์ thromboxane และ 4) กระตุ้น integrin  $\alpha IIb\beta 3$  และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเกล็ดเลือด การหลั่งสารออกจาก granules และเกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด

### กลไกการเกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด

ในบทความนี้จะเน้นเพียงในขั้นตอนของการเกิด platelet plug formation เท่านั้น  
**การเกิด platelet plug formation**<sup>1,3,13</sup>

เป็นกระบวนการที่เป็นพลวัตที่เกิดขึ้นต่อเนื่องกัน (dynamic) โดยแบ่งเป็น 3 ระยะ คือ Initiation phase, Extension phase และ Perpetuation phase

**1. Initiation phase** ในระยะเริ่มต้น เมื่อเกล็ดเลือดไหลผ่านไปพบกับบริเวณบาดแผลของหลอดเลือดจะไปจับกับ adhesive proteins บนเนื้อเยื่อชั้นใต้เยื่อบุผิวของหลอดเลือดที่เปิดออก เรียกว่าเกิด platelet adhesion เกิดเป็นชั้นของเกล็ดเลือดปกคลุมเพียงชั้นเดียว (platelet monolayer) และเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเกล็ดเลือด โดยในการเกิด platelet adhesion นั้น ตัวรับ GPIIb/IX/V complex บนเกล็ดเลือดจะไปจับกับ vWF ที่อยู่บนผิวของ collagen เป็นลำดับแรก จากนั้น integrin  $\alpha 2\beta 1$  และ GP VI จะจับกับ collagen โดยตรง ซึ่งทำให้เกิดการกระตุ้นเกล็ดเลือด และเกิดการหลั่งสารออกจาก granules โดยในระยะนี้เกล็ดเลือดที่จับอยู่กับเนื้อเยื่อจะหลั่ง soluble platelet agonists โดยตัวที่สำคัญคือ ADP และ  $TxA_2$  ในขณะที่เดียวกันจะกระตุ้นให้ integrin  $\alpha IIb\beta 3$  เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างให้อยู่ในรูปที่ active สามารถจับกับ fibrinogen หรือ vWF ได้ ทำให้เกล็ดเลือดจับกับผนังหลอดเลือดได้แน่นขึ้น และเกิดการจับกันระหว่างเกล็ดเลือดเข้าด้วยกัน

**2. Extension phase** การกระตุ้นเกล็ดเลือดในระยะนี้สำคัญมากต่อทั้งการเกิด protective hemostasis และ pathological thrombosis ซึ่งเกล็ดเลือดจะถูกกระตุ้นด้วย agonists หลายชนิด ทั้ง ADP,  $TxA_2$  และ thrombin โดย ADP และ  $TxA_2$  ที่ถูกหลั่งมาจากระยะ initiation phase จะดึงดูดเกล็ดเลือดที่ไหลเวียนอยู่มายังบริเวณบาดแผลที่มีเกล็ดเลือดปกคลุมอยู่ แล้ว ADP จะจับกับตัวรับ  $P2Y_1$  และ  $P2Y_{12}$  ส่วน  $TxA_2$  จะจับกับตัวรับ TP นอกจากนั้นเมื่อ thrombin จับกับตัวรับ PAR-1 และ PAR-4 จะเพิ่มการกระตุ้นเกล็ดเลือดขึ้นเป็นอย่างมาก ทำให้มีการหลั่งสารออกมามากขึ้นและเกิดการกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ integrin  $\alpha IIb\beta 3$  ให้อยู่ในรูป active อย่างเต็มที่

**3. Perpetuation phase** ในระยะนี้จะเกิดการจับของเกล็ดเลือดเข้าด้วยกัน โดยอาศัยตัวรับชนิด integrin  $\alpha\text{IIb}\beta_3$  ซึ่งจับกับ fibrinogen หรือ vWF เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเกล็ดเลือดและมีการหลั่งสารออกมามากขึ้น เกิดวงจรการกระตุ้นต่อเนื่องกันไปเรื่อย ๆ จนทำให้เกล็ดเลือดมาเกาะกลุ่มกันเพิ่มขึ้นจำนวนมาก เกิดเป็น platelet plug ปกคลุมบาดแผลทำให้เลือดหยุดไหล

จากนั้นจะมีการกระตุ้นกระบวนการทำให้เลือดแข็งตัว (coagulation cascade) (ไม่ได้กล่าวถึงรายละเอียดในบทความนี้) เพื่อสร้าง fibrin มาประสานเป็นร่างแหโอบรัด platelet plug ทำให้เกิดการแข็งตัวของเลือด (blood clot) โดยในกระบวนการทำให้เลือดแข็งตัวจะมีการสร้าง thrombin ขึ้น ซึ่ง thrombin นี้จะไปมีผลช่วยกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดดังกล่าวมาแล้ว พบว่าลิ้มเลือดที่เกิดขึ้นใน acute atherothrombotic events นั้นมีสองลักษณะคือ เป็นแบบ partially occlusive ซึ่งประกอบด้วยกลุ่มของเกล็ดเลือดเท่านั้น หรือเป็นแบบ completely occlusive ซึ่งประกอบด้วยกลุ่มของเกล็ดเลือดอยู่ตรงกลางแล้วมี fibrin ที่เกิดจากกระบวนการทำให้เลือดแข็งตัวหุ้มอยู่ด้านบน

เมื่อเลือดหยุดไหลแล้วร่างกายจะมีกลไกยับยั้งเพื่อไม่ให้เกิดการกระตุ้นเกล็ดเลือดอีก เพื่อช่วยควบคุมและป้องกันไม่ให้เกิดลิ้มเลือดที่ไม่ต้องการ โดยเซลล์เยื่อบุผิวหลอดเลือดจะหลั่งสาร  $\text{PGI}_2$  และ NO ดังที่ได้กล่าวมาข้างต้น

จะเห็นได้ว่าเกล็ดเลือดนั้นมีบทบาทที่สำคัญในการเกิดลิ้มเลือด ซึ่งมีความสำคัญในการห้ามเลือด รวมทั้งมีความเกี่ยวข้องในการทำให้เกิดลิ้มเลือดอุดตันในหลอดเลือดได้ จากความรู้เกี่ยวกับกลไกการเกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดดังกล่าวมา สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในทางยาเพื่อป้องกันการเกิดลิ้มเลือด อันเป็นการป้องกันการเกิดพยาธิสภาพต่าง ๆ ของโรคที่เกิดจากลิ้มเลือดอุดตันในหลอดเลือด โดยในส่วนตัวต่อไปนี้จะกล่าวถึงกลไกการออกฤทธิ์ของยาที่ใช้ป้องกันการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด หรืออาจเรียกสั้น ๆ ว่า ยาต้านเกล็ดเลือด

### ยาต้านเกล็ดเลือด (Antiplatelet agents)

เป็นกลุ่มยาที่ใช้รักษาและป้องกันการเกิดโรคที่เกิดจากลิ้มเลือดอุดตันในหลอดเลือด โดยยาส่วนใหญ่จะเน้นออกฤทธิ์ต่อกลไกสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด (ภาพที่ 3) เพื่อใช้ลดความสามารถในการจับกันของเกล็ดเลือด เป็นการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดซึ่งจะมีผลไม่ให้เกิดลิ้มเลือดอันจะนำไปสู่การเกิดพยาธิสภาพ ในบทความนี้จะเน้นในส่วนของกลไกการออกฤทธิ์ของยาเป็นหลัก

ยาต้านเกล็ดเลือด<sup>6,7,10,11,14</sup> แบ่งเป็น 3 กลุ่มหลัก คือ

1. Platelet aggregation inhibitors
2. Glycoprotein platelet inhibitors
3. Protease-activated receptor-1 antagonist

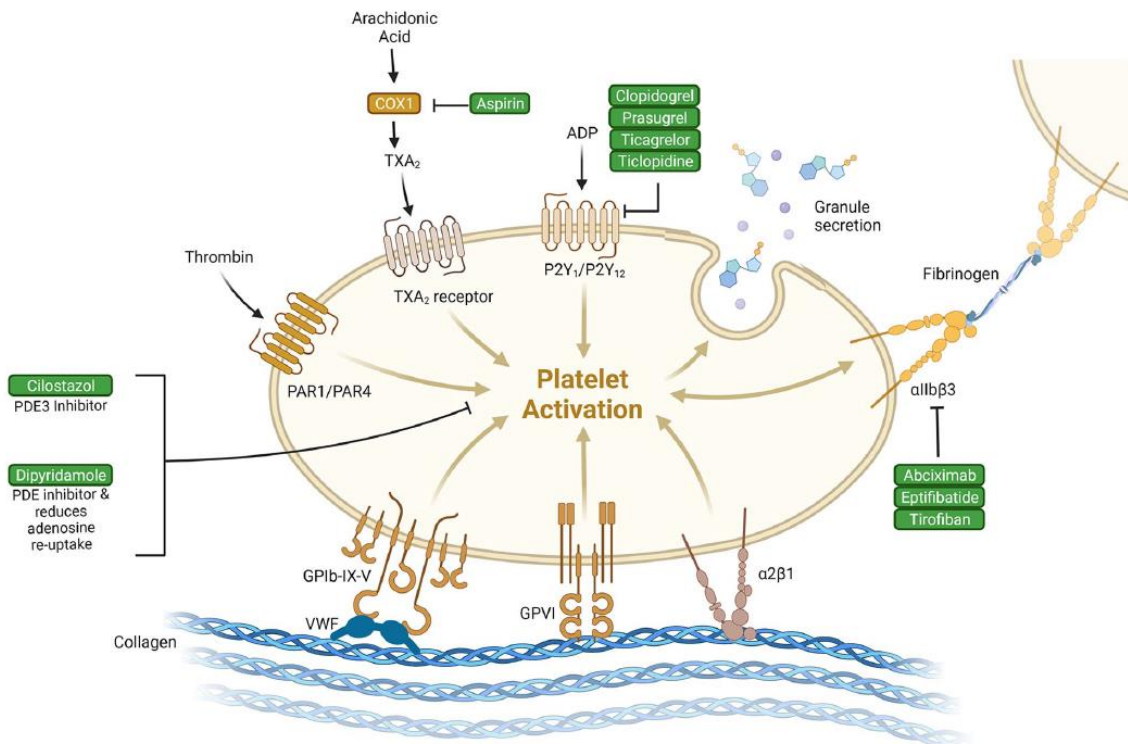
## 1. Platelet aggregation inhibitors

ยาในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ที่ตำแหน่งที่แตกต่างกันของกลไกการเกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด โดยแบ่งเป็นกลุ่มย่อยดังนี้

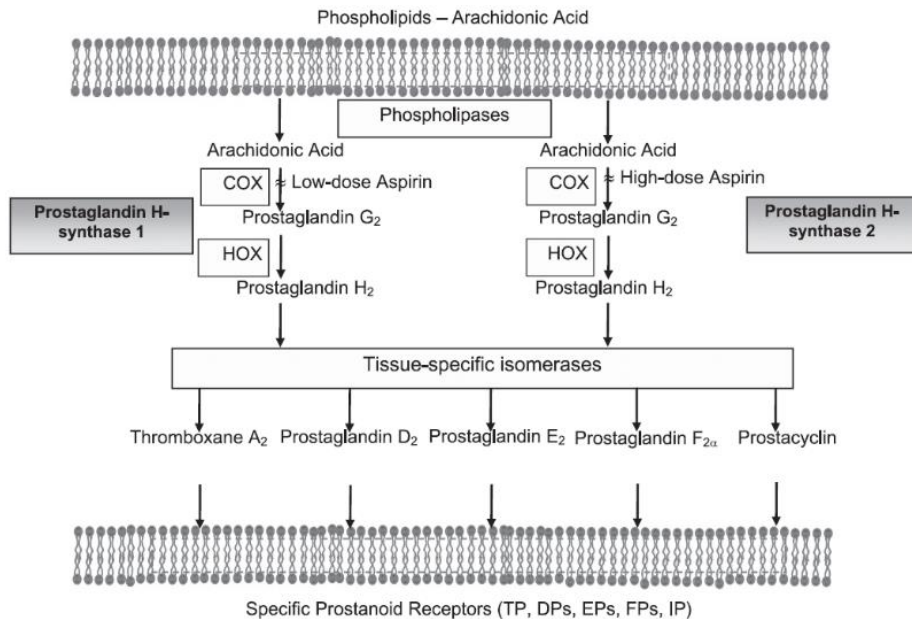
### 1.1 ยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ Thromboxane A<sub>2</sub>

ยาที่มีการใช้กันมาก คือ aspirin (acetylsalicylic acid, ASA) ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase โดยเฉพาะ COX-1 (รูปที่ 3 และ 4) แบบไม่สามารถผันกลับได้ (irreversible) โดย aspirin จะไปยับยั้งการ acetylate ที่ตำแหน่ง Ser529 ของ COX-1 ทำให้ catalytic site ของ COX-1 ไม่สามารถจับกับ arachidonic acid ได้ จึงทำให้เกิดการยับยั้งการสร้าง prostaglandin H<sub>2</sub> และ TxA<sub>2</sub> ตามลำดับ (รูปที่ 4) ทำให้การสร้าง TxA<sub>2</sub> ในเกล็ดเลือดลดลง จึงไม่ถูกหลั่งออกไปกระตุ้นเกล็ดเลือดผ่าน TP receptor ได้ จึงป้องกันการเกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดได้

ฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดของ aspirin จะคงอยู่ตลอดอายุขัยของเกล็ดเลือด เนื่องจากการยับยั้ง COX-1 เป็นแบบไม่สามารถผันกลับได้ โดย TxA<sub>2</sub> นั้นจะกลับมาสังเคราะห์ได้ในเกล็ดเลือดที่สร้างขึ้นใหม่เท่านั้น



รูปที่ 3 กลไกการออกฤทธิ์ของยาต้านเกล็ดเลือด<sup>11</sup>



รูปที่ 4 วิถีเมแทบอลิซึมของ arachidonic acid และกลไกการออกฤทธิ์ของ aspirin<sup>14</sup>

## 1.2 ยาที่ออกฤทธิ์ต้านการจับของ ADP กับตัวรับ (ADP receptor antagonists)

ส่วนใหญ่เป็นยาในกลุ่ม P2Y<sub>12</sub> receptor antagonists ซึ่งแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยดังนี้ คือ

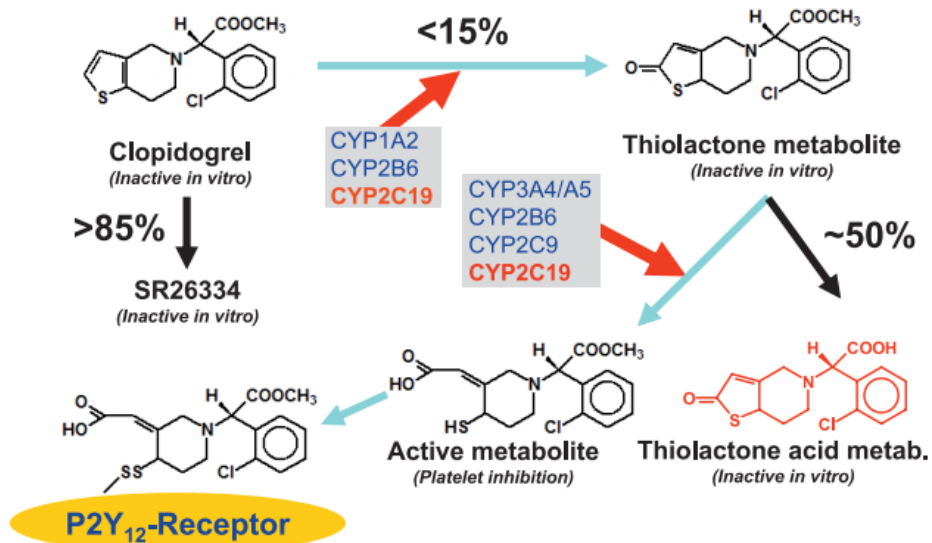
**1.2.1 ยาต้านการจับกับตัวรับ P2Y<sub>12</sub> แบบไม่สามารถผันกลับได้ (irreversible P2Y<sub>12</sub> receptor antagonists)** ยากลุ่มนี้มีโครงสร้างเป็น thienopyridines และมีคุณสมบัติเป็น prodrug ซึ่งจะถูกละลายโดยเอนไซม์ cytochrome P450 (CYP) ในตับ ได้เป็น active metabolite ซึ่งจะไปแย่งจับกับ P2Y<sub>12</sub> receptor แบบไม่สามารถผันกลับได้ ทำให้ ADP ไม่สามารถจับกับ P2Y<sub>12</sub> receptor ได้ จึงเป็นการป้องกันการกระตุ้นเกล็ดเลือดและการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่เกิดจาก ADP ได้ ยากลุ่มนี้แบ่งออกเป็น 3 รุ่น ดังนี้

**A. Ticlopidine (Ticlid<sup>®</sup>; Roche)** เป็น thienopyridine รุ่นแรก (first generation) โดยเป็นยากลุ่ม P2Y<sub>12</sub> antagonist ตัวแรกที่ได้รับการอนุมัติจากองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (US-FDA) เป็นยาที่ให้โดยการรับประทานวันละ 2 ครั้ง แต่พบว่ามีผลข้างเคียงที่ทำให้เกิดภาวะ neutrophil ต่ำ (neutropenia) ที่รุนแรง และอาจทำให้เกิดโรค thrombotic thrombocytopenic purpura ซึ่งมีความรุนแรงแม้ว่าอัตราการเกิดโรคต่ำ โดยตั้งแต่ปี ค.ศ. 2015 พบว่าไม่มีการผลิต ticlopidine ออกมาจำหน่ายอีกในสหรัฐอเมริกา และปัจจุบันการใช้ทางคลินิกถูกแทนที่โดย clopidogrel เนื่องจากมีผลข้างเคียงน้อยกว่า เช่น มีภาวะ neutropenia น้อยกว่า และมีอัตราการเกิด thrombotic thrombocytopenic purpura น้อยกว่า

**B. Clopidogrel** ( Plavix<sup>®</sup>; Bristol– Myers Squibb/ Sanofi– Aventis) เป็น thienopyridine รุ่นที่สอง (second generation) โดยมีฤทธิ์เช่นเดียวกับ ticlopidine แต่รับประทานเพียงวันละ 1 ครั้ง และมีผลข้างเคียงน้อยกว่า จัดเป็นยาป้องกันการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่มีการใช้มากที่สุด ในทางคลินิกในปัจจุบัน<sup>15</sup>

clopidogrel ซึ่งเป็น prodrug นั้น เมื่อรับประทานเข้าไปแล้ว ยามากกว่า 85% จะถูก metabolize โดยเอนไซม์ carboxylesterase 1 (CES1) ในลำไส้เล็กให้เปลี่ยนไปเป็นกรด clopidogrel (SR26334) ซึ่งเป็น inactive metabolite ส่วนยาที่เหลือน้อยกว่า 15% จะถูก metabolize ในตับ 2 ขั้นตอนต่อเนื่องกัน โดย CYP หลายชนิด แต่ตัวหลักคือ CYP2C19 ขั้นตอนแรกจะทำให้เกิด thiolactone metabolite (2-oxo-clopidogrel) ที่ไม่มีฤทธิ์ ซึ่งจะถูกลดเปลี่ยนแปลงต่อในขั้นตอนที่สองได้เป็น active metabolite ส่วน 2-oxo-clopidogrel อีกประมาณ 50% จะถูกเปลี่ยนแปลงเป็น inactive metabolite (รูปที่ 5)<sup>6,15,16,18</sup>

จากการศึกษาพบว่าผู้ป่วยที่ได้รับ clopidogrel มีผลตอบสนองต่อการรักษาแตกต่างกัน เนื่องจากในแต่ละบุคคลอาจมีความแตกต่างของยีน (genetic polymorphisms) ของเอนไซม์ CYP450 polymorphisms โดยเฉพาะ CYP2C19 variants ที่เกี่ยวข้องกับการ metabolize ยา clopidogrel ในแต่ละบุคคลต่างกัน ซึ่งจะกล่าวถึงในหัวข้อเภสัชพันธุศาสตร์ต่อไป

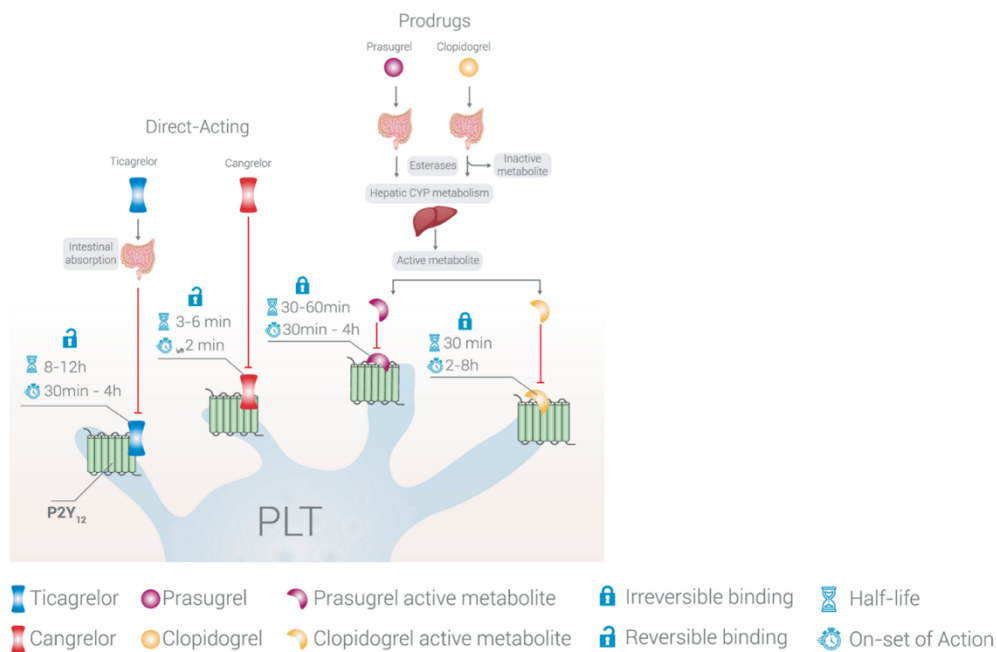


รูปที่ 5 วิถีเมแทบอลิซึมของ Clopidogrel<sup>16</sup>

C. Prasugrel (Effient<sup>®</sup>; Lilly/Daiichi Sankyo) เป็น thienopyridine รุ่นที่สาม (third generation) ซึ่งออกฤทธิ์และมีผลเช่นเดียวกับ ticlopidine และ clopidogrel แต่การ metabolize ยา prasugrel ไปเป็น active metabolite นั้นมีประสิทธิภาพมากกว่า clopidogrel มาก โดย prasugrel จะถูก deacetylation ในลำไส้เล็กโดยเอนไซม์ carboxyesterases ได้เป็น thiolactone (R-95913) ซึ่งเป็น inactive metabolite แล้วถูก metabolize ต่อที่ตับเพียงขั้นตอนเดียวโดย CYP3A4, CYP2B6 เป็นหลัก และโดย CYP2C9, CYP2C19, และ CYP2D6 เป็นส่วนน้อย ได้เป็น active metabolite (R-138727) ซึ่งจะไปแย่งจับกับ P2Y<sub>12</sub> receptor โดยยับยั้ง ADP-induced platelet aggregation ได้เร็วและแรงกว่า clopidogrel รวมถึงยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือดได้สม่เสมอกว่าด้วย แต่จากการศึกษาพบว่าการใช้ prasugrel มีผลข้างเคียงทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิด bleeding ที่รุนแรงและอาจทำให้เกิดการเสียชีวิตได้มากกว่า<sup>14</sup>

พบว่าผลการตอบสนองต่อ prasugrel ในผู้ป่วยแต่ละรายไม่มีความแตกต่างกันมากนัก ซึ่งต่างจาก clopidogrel โดยพบว่าเกิดการเกิด genetic polymorphism แบบไม่สามารถทำหน้าที่ได้ (loss of function) ของยีน CYP2C19 และ CYP2C9 นั้นไม่เกี่ยวข้องกับการลดฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ active metabolite ของ prasugrel

กล่าวโดยสรุปด้านฤทธิ์ของยา พบว่ายาในกลุ่ม irreversible P2Y<sub>12</sub> receptor antagonists นั้นพบว่าฤทธิ์ของ prasugrel > clopidogrel > ticlopidine



รูปที่ 6 กลไกการออกฤทธิ์ของ P2Y<sub>12</sub> receptor antagonists<sup>17</sup>, PLT = platelet

## 1.2.2 ยาต้านการจับกับตัวรับ P2Y<sub>12</sub> แบบผันกลับได้ (reversible P2Y<sub>12</sub> receptor antagonists)

**A. Ticagrelor** (Brilinta<sup>®</sup>, AstraZeneca) เป็นยาในกลุ่ม P2Y<sub>12</sub> antagonist ที่มีโครงสร้างเป็น cyclo-pentyl-triazolo-pyrimidine (CPTP) โดยเป็น ATP analog ที่อยู่ในรูปแบบของยา รับประทาน ยากลุ่มนี้ไม่ได้เป็น prodrug สามารถออกฤทธิ์ยับยั้ง P2Y<sub>12</sub> ได้โดยตรง โดยจับกับ P2Y<sub>12</sub> ที่ตำแหน่งต่างจาก ADP (ไม่ได้แย่งจับกับ ADP) แบบผันกลับได้ นอกจากนี้ ticagrelor ยังยับยั้ง adenosine reuptake โดย membrane-bound channel ที่มีชื่อว่า type-1 equilibrative nucleoside transporter (ENT1) ในเม็ดเลือดแดงและเกล็ดเลือด ทำให้เพิ่มฤทธิ์ในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด<sup>6</sup>

ticagrelor ส่วนใหญ่จะถูก metabolize โดย CYP3A4 ได้เป็น metabolite ที่มีปริมาณประมาณ 30-40% ของ ticagrelor และ metabolite นี้ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดอยู่ ยาตัวนี้แม้ออกฤทธิ์เร็วและแรงกว่า รวมถึงสามารถคาดการณ์ผลการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดได้ดีกว่า clopidogrel แต่การยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดก็มีฤทธิ์อยู่ไม่นาน โดยมีฤทธิ์ประมาณ 12 ชม.<sup>3</sup>

ticagrelor ยังมีผลข้างเคียงเกี่ยวกับ bleeding น้อยกว่า clopidogrel แต่เกิดภาวะหายใจลำบาก (dyspnea) มากกว่า และมีโอกาสเกิด ventricular pause ได้มากกว่า<sup>4,11</sup>

**B. Cangrelor** (Kangreal<sup>®</sup>, The Medicines Company) เป็น P2Y<sub>12</sub> antagonist ตัวแรกที่ให้ยาทาง IV ออกฤทธิ์โดยไปแย่งจับกับ P2Y<sub>12</sub> receptor แบบผันกลับได้ โดยฤทธิ์จะหมดลงหลังจบการให้ยา จึงจัดเป็นยาที่มี onset และ offset เร็ว และมีฤทธิ์ที่ดีกว่า clopidogrel, prasugrel และ ticagrelor นอกจากนี้ยังมีผลต่อ bleeding น้อย แต่มีราคาสูง<sup>17</sup>

โดยสรุปกลไกการออกฤทธิ์ของ P2Y<sub>12</sub> receptor antagonists แสดงดังรูปที่ 6

## 1.3 Phosphodiesterase (PDE) inhibitors หรือ Adenosine reuptake inhibitors และ Prostacyclin analog

**1.3.1 Dipyridamole** เป็นอนุพันธ์ของ pyrimidopyrimidine ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดและมีฤทธิ์ขยายหลอดเลือด โดยฤทธิ์ในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดเกิดจากหลายกลไกได้แก่ การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclic nucleotide phosphodiesterase, PDE 3 และ PDE5 ที่ทำหน้าที่เปลี่ยน cAMP ไปเป็น 5-AMP และยับยั้งการเปลี่ยน cGMP ไปเป็น GMP, การยับยั้งการ reuptake ของ adenosine และยังมีผลกระตุ้นการสร้าง PGI<sub>2</sub> ซึ่งผลโดยรวมทำให้ระดับของ cAMP ภายในเกล็ดเลือดสูงขึ้น เกิดการยับยั้ง signal transduction ทำให้ไม่เกิดการกระตุ้นเกล็ดเลือด



**1.3.2 Cilostazol** (Pletal<sup>®</sup>, Otsuka) เป็นอนุพันธ์ของ 2-Oxoquinolone ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ PDE3 อย่างเฉพาะเจาะจง โดยเฉพาะ PDE3A ที่พบเป็นหลักในเกล็ดเลือด ยับยั้งการเปลี่ยน cGMP ไปเป็น GMP รวมถึงยับยั้ง adenosine reuptake และเพิ่มการทำงานของ adenylylate cyclase ทำให้ระดับของ cAMP สูงขึ้น มีฤทธิ์ป้องกันการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดแบบผันกลับได้ และทำให้หลอดเลือดขยายตัว<sup>6,11</sup>

**1.3.3 Iloprost** (Ventavist<sup>®</sup>, Schering AG) เป็นยาในกลุ่ม stable analog ของ PGI<sub>2</sub> มีฤทธิ์ขยายหลอดเลือดเดิมใช้เป็นยาลดความดันหลอดเลือดแดงในปอดสูง (pulmonary arterial hypertension) มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ adenylylate cyclase ทำให้เพิ่มระดับของ cAMP ภายในเกล็ดเลือด<sup>6</sup>

## 2. Glycoprotein platelet inhibitors หรือ integrin $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ antagonists

ยากลุ่มนี้ป้องกันไม่ให้เกิดการจับระหว่างโมเลกุลของเกล็ดเลือด โดยไปแย่งจับกับตัวรับ integrin  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  บนผิวของเกล็ดเลือด จึงป้องกันไม่ให้เกิด fibrinogen หรือ vWF ซึ่งเป็น substrates ของ glycoprotein receptors ไม่สามารถจับกับตัวรับได้ จึงมีผลยับยั้งการจับกันของเกล็ดเลือดไม่ให้อักรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อน จึงไม่เกิดลิ่มเลือด

ยาในกลุ่มนี้จะให้ทาง IV ทุกตัว เนื่องจากยังไม่ประสบผลสำเร็จในการพัฒนาที่ให้โดยการรับประทาน ยาที่มีฤทธิ์สั้นและไม่เหมาะในการใช้แบบระยะยาว ยากลุ่มนี้ได้แก่

**2.1.1 Abciximab** (ReoPro<sup>®</sup>; Janssen Pharmaceuticals) เป็น Fab fragment ของ chimeric human-murine monoclonal antibody 7E3 เป็นยาตัวแรกในกลุ่มนี้และเข้าสู่การทดลองทางคลินิกใน phase III ยังต้องมีการศึกษาถึงประสิทธิภาพเพิ่มเติม แต่ยาตัวนี้เกิดการขาดแคลนไม่มีเข้าสู่ตลาดอีกตั้งแต่นั้นปี ค.ศ. 2019 เนื่องจากเกิดปัญหาจากผู้ผลิต<sup>6</sup>

**2.1.2 Eptifibatid** (Integrilin<sup>®</sup>; Millennium Pharmaceuticals/Schering-Plough) เป็น KGD-containing cyclic heptapeptide แต่ก็มีผลข้างเคียงที่ทำให้เกิด thrombocytopenia ที่ถึงแม้ว่าจะพบน้อยแต่รุนแรง ทำให้เกิดการเสียชีวิตได้

**2.1.3 Tirofiban** (Aggrastat<sup>®</sup>; Merck) เป็น non-peptide derivative ของ tyrosine ที่เลียนแบบมาจาก fibrinogen binding sequence (RGD sequence) บนโมเลกุลของ integrin  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  พบว่า tirofiban มีความเสี่ยงในการทำให้เกิด thrombocytopenia น้อยกว่า abciximab

**3. Protease-activated receptor-1 (PAR-1) antagonist หรือ Thrombin receptor antagonist (TRA)** ยากลุ่มนี้มีฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่เกิดจากกระตุ้นโดย thrombin

**3.1 Vorapaxar** (Zontivity<sup>®</sup>, Merck & Co.)



เป็นยาสังเคราะห์เลียนแบบสาร Himbacine จากธรรมชาติ โดยให้ยาทางการรับประทาน ออกฤทธิ์โดยไปแย่งจับกับตัวรับ PAR-1 แบบผันกลับได้ ยานี้จะถูก metabolize โดยเอนไซม์ CYP3A4 ที่ตับ

นอกจากยาเหล่านี้แล้วยังมียาที่ยังอยู่ในระหว่างการศึกษาก็เป็นจำนวนมาก เช่น GPVI และ GPIIb-V-IX antagonists, integrin  $\alpha 2\beta 1$  antagonists, serotonin receptor antagonists, GPIb antagonists, P-selectin และ PSGL1 antagonists เป็นต้น<sup>7</sup>.

### เภสัชพันธุศาสตร์ของยาต้านเกล็ดเลือด (Pharmacogenomics of antiplatelet therapy)<sup>6,15,18</sup>

ประสิทธิภาพของการป้องกันและการรักษาด้วยยาต้านเกล็ดเลือดนั้นขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ที่สำคัญคือ ปัจจัยทางพันธุกรรม พบว่ายาต้านเกล็ดเลือดที่มีหลักฐานมากที่สุดว่าความแตกต่างของพันธุกรรมในแต่ละบุคคลนั้นมีผลต่อการตอบสนองต่อยา คือ clopidogrel ซึ่งเป็น ยาในกลุ่ม P2Y<sub>12</sub> receptor antagonist โดยจะกล่าวถึงอย่างสรุปต่อไปนี้

ดังที่ได้ทราบแล้วว่าเอนไซม์ CYP2C19 นั้นมีบทบาทสำคัญในการ metabolize ยา clopidogrel ในตับ พบว่าความแตกต่างของยีนที่ควบคุมการสร้าง CYP2C19 นั้นส่งผลต่อการ metabolize ยาที่แตกต่างกันไป จากข้อมูลจาก Pharmacogene Variation Consortium (PharmVar)<sup>19,20</sup> ในปัจจุบันได้พบความแตกต่างของยีนนี้ถึง 39 star (\*) allele haplotypes ดังนี้

- normal allele, *CYP2C19*\*1/\*1 จัดเป็น wild-type เป็น allele ที่พบมากที่สุดในการประชากรทั่วไป (69.5%) โดยเอนไซม์ทำหน้าที่ได้ปกติ จัดเป็น normal metabolizer (NM)

- loss of function (LOF) allele เช่น *CYP2C19*\*2 -\*8 แต่ที่มีการศึกษามาก คือ *CYP2C19*\*2 และ *CYP2C19*\*3 โดยหากมี LOF 2 alleles เช่น *CYP2C19*\*2/\*2 หรือ *CYP2C19*\*3/\*3 หรือ *CYP2C19*\*2/\*3 จัดเป็น poor metabolizer (PM) ซึ่งเอนไซม์ทำหน้าที่ได้ลดลง จึงทำให้เกิด active metabolite ลดลง ยาจึงมีปริมาณไม่เพียงพอที่จะออกฤทธิ์ตามที่ต้องการ แต่หากมีเพียง 1 copy ของ LOF allele เช่น *CYP2C19*\*1/\*2 หรือ *CYP2C19*\*1/\*3 จัดเป็น intermediate metabolizer (IM) กรณีผู้ที่มี LOF alleles อาจทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิดลิ่มเลือดอุดตันได้

- gain of function (GOF) allele เช่น *CYP2C19*\*17 หากมีเพียง 1 copy เช่น *CYP2C19*\*1/\*17 จัดเป็น rapid metabolizer (RM) หากมี GOF 2 alleles เช่น *CYP2C19*\*17/\*17 จัดเป็น ultra-rapid metabolizer (UM) ซึ่งเอนไซม์ทำหน้าที่ได้เพิ่มขึ้น ทำให้เกิด active metabolite มากขึ้น จึงมีปริมาณยาปริมาณที่จะออกฤทธิ์มากกว่าที่ต้องการ ซึ่งอาจทำให้เกิดผลข้างเคียงอื่นตามมาได้ เช่น เกิด bleeding

ทั้งนี้พบว่าในประชากรที่มีเชื้อชาติต่างกันก็มีความแตกต่างของยีน (genetic variants) ทำให้การ metabolize ยา clopidogrel แตกต่างกัน โดยพบว่า *CYP2C19*\*2 พบมากที่สุดใเอเชียใต้ (32.5%) และเอเชียตะวันออกเฉียง (31%) ส่วน *CYP2C19*\*3 นั้นไม่ค่อยพบในยุโรปและแอฟริกา แต่พบมากในเอเชีย

ตะวันออก (6.3%) แต่พบน้อยในเอเชียใต้ (0.4%) ส่วน *CYP2C19\*17* นั้นพบมากในประชากรแอฟริกัน และยุโรป

จากข้อมูลดังกล่าวจึงได้มีการแนะนำให้มีการตรวจยีน *CYP2C19* ก่อนที่ผู้ป่วยจะได้รับยา clopidogrel<sup>21</sup> เพื่อนำมาวิเคราะห์ในการปรับขนาดยาให้เหมาะสมต่อการรักษา หรือหากมีความจำเป็นก็อาจต้องเปลี่ยนชนิดของยาเพื่อให้ผู้ป่วยได้รับประสิทธิผลจากการรักษาสูงสุด

## บทสรุป

จากบทบาทของเกล็ดเลือดในการทำให้เกิดลิ่มเลือด พบว่ามีกลไกสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นเกล็ดเลือดและการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด ได้แก่ การที่ GPIIb/IX/V complex บนเกล็ดเลือดจับกับ vWF, integrin  $\alpha 2\beta 1$  และ GP VI จับกับ collagen, การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ integrin  $\alpha IIb\beta 3$  ให้อยู่ในรูปที่จับกับ vWF และ fibrinogen ได้, การหลั่งสารจากเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นที่สำคัญ เช่น ADP,  $TxA_2$  และ thrombin ซึ่งการจับของ ADP กับ P2Y receptors,  $TxA_2$  กับ TP receptors และ thrombin กับ PAR receptors ช่วยให้เกิดการกระตุ้นเกล็ดเลือดได้มากขึ้น จนกระทั่งเกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดเกิดเป็นลิ่มเลือด กลไกเหล่านี้รวมถึงกลไกที่เกิดขึ้นภายในเซลล์นั้นเป็นเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยาต้านเกล็ดเลือดหลายชนิด เช่น aspirin ซึ่งเป็นยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์  $TxA_2$ ; P2Y<sub>12</sub> antagonists เช่น clopidogrel, prasugrel, ticagrelor; integrin  $\alpha IIb\beta 3$  antagonists เช่น eptifibatide, tirofiban หรือ PAR-1 antagonist เช่น vorapaxar เป็นต้น ยาเหล่านี้มีการใช้ทั้งเป็นยาเดี่ยวหรือใช้หลายตัวร่วมกันโดยต้องคำนึงถึงประสิทธิภาพและผลข้างเคียงของยา การมีความรู้ความเข้าใจในกลไกการกระตุ้นเกล็ดเลือดที่พื้มมากขึ้นในอนาคตจะนำไปสู่การคิดค้นยาต้านเกล็ดเลือดตัวใหม่ที่มีประสิทธิภาพและลดผลข้างเคียงได้มากขึ้น นอกจากนี้องค์ความรู้ทางด้านเภสัชพันธุศาสตร์ที่จะมีผลต่อเภสัชจลนศาสตร์และเภสัชพลศาสตร์ของยายังมีความสำคัญต่อการบริหารยาในแต่ละบุคคลอีกด้วย

## เอกสารอ้างอิง

1. Yeung J, Li W, Holinstat M. Platelet signaling and disease: Targeted therapy for thrombosis and other related diseases. *Pharmacol Rev.* 2018;70:526–548.
2. Rivera J, Lozano ML, Navarro-Núñez L, Vicente V. Platelet receptors and signaling in the dynamics of thrombus formation. *Haematologica.* 2009;94:700-711.
3. Fintel, DJ. Oral antiplatelet therapy for atherothrombotic disease: overview of current and emerging treatment options. *Vasc Health Risk Manag.* 2012;8:77–89.
4. Michelson AD. Antiplatelet therapies for the treatment of cardiovascular disease. *Nat Rev Drug Discov.* 2010;9:154-169.
5. Kei AA, Florentin M, Mikhailidis DP, Elisaf MS, Liberopoulos EN. Antiplatelet drugs: what comes next?. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2011;17(1):9-26.
6. Jourdi G, Godier A, Lordkipanidzé M, Marquis-Gravel G, Gaussem P. Antiplatelet therapy for atherothrombotic disease in 2022— from population to patient- centered approaches. *Front Cardiovasc Med.* 2022;9:805525.
7. van der Meijden PEJ, Heemskerk JWM. Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives. *Nat Rev Cardiol.* 2019;16:166-179.
8. Broos K, Feys HB, De Meyer SF, Vanhoorelbeke K, Deckmyn H. Platelets at work in primary hemostasis. *Blood Rev.* 2011;25:155-167.
9. Grover SP, Bergmeier W, Mackman N. Recent highlights of ATVB: Platelet signaling pathways and new inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2018;38(4): e28–e35.
10. Tscharre M, Michelson AD, Gremmel T. Novel antiplatelet agents in cardiovascular disease. *J Cardiovas Pharmacol Ther.* 2020; 25(3):191-200.
11. Kamarova M, Baig S, Patel H, Monks K, Wasay M, Ali A, et. al. Antiplatelet use in ischemic stroke. *Ann Pharmacother.* 2022;56(10)1159–1173.
12. Estevez B, Du X. New concepts and mechanisms of platelet activation signaling. *Physiology.* 2017;32: 162–177.
13. Brass LF, Tomaiuolo M, Welsh J, Poventud-Fuentes I, Zhu L, Diamond SL, et al. Hemostatic thrombus formation in flowing blood. In Michelson AD, editor. *Platelets.* 4<sup>th</sup> ed. London:Academic Press, Elsevier,2019;p.371-91.

14. Eikelboom JW, Hirsh J, Spencer FA, Baglin TP, Weitz JI. Antiplatelet drugs: Antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9<sup>th</sup> ed: American college of chest physicians evidence- based clinical practice guidelines. Chest. 2012;141(2)(Suppl):e89S–e119S.
15. Akhtar T, Bandyopadhyay D, Ghosh RK, Aronow WS, Lavie CJ, Yadav N. Advances in the pharmacogenomics of antiplatelet therapy. Am J Ther. 2019;0,1–8.
16. Trenk D, Kristensen SD, Hochholzer W, Neumann FJ. High on-treatment platelet reactivity and P2Y<sub>12</sub> antagonists in clinical trials. Thromb Haemost. 2013;109(5):834-45.
17. Luca LD, Steg PG, Bhatt DL, Capodanno D, Angiolillo DJ. Cangrelor: Clinical data, contemporary use, and future perspectives. J Am Heart Assoc. 2021;10:e022125.
18. Castrichini M, Luzum JA, Pereira N. Pharmacogenetics of Antiplatelet Therapy. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2023;63:211–29.
19. Pharmacogene Variation Consortium (PharmVar). CYP2C19 [online]. 2023 [cited 2023 August 1]. Available from: [http:// www.PharmVar.org](http://www.PharmVar.org).
20. Botton MR, Whirl-Carrillo M, Del Tredici AL, Sangkuhl K, Cavallari LH, et al. PharmVar Gene-Focus: CYP2C19. Clin Pharmacol Ther. 2021;109(2):352–66.
21. Lee CR, Luzum JA, Sangkuhl K, Gammal RS, Sabatine MS, Stein CM, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline for *CYP2C19* genotype and clopidogrel therapy: 2022 update. Clin Pharmacol Ther. 2022;1-9.