

DOI: 10.16781/j.0258-879x.2019.06.0664

· 综述 ·

替格瑞洛影响冠心病患者血浆腺苷浓度的研究进展

徐汝明, 马丽萍*

海军军医大学(第二军医大学)长海医院心血管内科, 上海 200433

[摘要] 替格瑞洛是一种新型口服抗血小板药物, 通过直接作用于二磷酸腺苷(ADP)受体 P2Y₁₂ 抑制 ADP 介导的血小板聚集, 发挥抗血小板功能。除抑制血小板聚集外, 替格瑞洛还表现出生物多效性, 如增加冠状动脉血流、限制心肌梗死面积和诱发呼吸困难等。研究认为替格瑞洛的生物多效性与腺苷密切相关, 但目前有关替格瑞洛对血浆腺苷浓度影响的研究结果并不一致, 可能与血浆腺苷浓度的不同测定方法(尤其是终止液配比)、不同测定时间点等有关。规范血浆腺苷浓度的测定方法以及动态监测服用替格瑞洛后血浆腺苷浓度的变化, 有助于进一步明确替格瑞洛对血浆腺苷浓度的影响。

[关键词] 冠心病; 替格瑞洛; 腺苷; 血浆浓度

[中图分类号] R 973.2

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2019)06-0664-04

Effect of ticagrelor on plasma adenosine concentration in patients with coronary heart disease

XU Ru-ming, MA Li-ping*

Department of Cardiology, Changhai Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

[Abstract] Ticagrelor is a novel oral antiplatelet agent. It can inhibit platelet aggregation mediated by adenosine diphosphate (ADP) by directly acting on ADP receptor P2Y₁₂, exerting its antiplatelet function. In addition, ticagrelor showed bioavailability like increasing coronary blood flow, reducing myocardial infarction size and inducing dyspnea. These effects were thought to be closely related to adenosine. However, recent publications about the effect of ticagrelor on plasma adenosine concentration were inconsistent, which may be caused by different determination methods, especially various compositions of stop solution, and different sampling time points. Standardized determination method of plasma adenosine concentration and dynamically monitoring the changes of plasma adenosine after taking ticagrelor may help to further illustrate the influence of ticagrelor on plasma adenosine concentration.

[Key words] coronary disease; ticagrelor; adenosine; plasma concentration

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2019, 40(6): 664-667]

替格瑞洛是一种新型口服抗血小板药物, 它可直接与血小板上的二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)受体 P2Y₁₂ 可逆性结合, 抑制 P2Y₁₂ 受体激活, 阻断血小板糖蛋白 II b/III a 与纤维蛋白原结合, 发挥抑制血小板聚集作用; 与第 2 代抗血小板药氯吡格雷相比, 替格瑞洛起效快、抗血小板作用强、个体差异小^[1]。近年研究显示, 替格瑞洛除抑制血小板聚集外, 还表现出生物多效性, 如增加冠状动脉血流、限制心肌梗死面积等^[1-3]; 此外, 替格瑞洛相关呼吸困难发生率超过

10%, 而呼吸困难会影响患者的服药依从性^[4-5]。

替格瑞洛生物多效性与腺苷密切相关。替格瑞洛生物多效性与腺苷生物效应存在诸多相似之处, 二者均能增加冠状动脉血流^[6]、限制心肌梗死面积^[2,7]、诱发呼吸困难^[4]; 同时, 有研究显示, 腺苷受体拮抗剂氨茶碱能够缓解替格瑞洛相关呼吸困难^[8]。因此, 明确替格瑞洛对血浆腺苷浓度的影响对于理解替格瑞洛的生物多效性至关重要。然而, 受限于血浆腺苷浓度测定不稳定等因素, 目前关于替格瑞洛对血浆腺苷浓度影响的研究结果并不一

[收稿日期] 2019-05-13

[接受日期] 2019-06-03

[作者简介] 徐汝明, 硕士生. E-mail: xuruming2009@163.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-31161258, E-mail: mlp-125@163.com

致。现就近年替格瑞洛对血浆腺苷浓度影响的相关研究进展作一综述。

1 血浆腺苷浓度测定方法

腺苷作为内源性核苷, 其在血浆中的浓度取决于生成与清除的动态平衡。腺苷半衰期短, 在循环中生成和清除非常迅速, 且血液标本离体后这一过程仍然持续^[9]。因此, 血液标本的合理处理对于准确、稳定地测定腺苷浓度非常重要。目前相关研究中, 血液标本处理主要是在采血后立即加入终止液以抑制血浆中腺苷的代谢, 减少操作对血浆腺苷浓度的影响^[9]。常用的终止液成分有:

(1) 乙二胺四乙酸 (ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA) 或 5'-(α , β -亚甲基) 二磷酸腺苷 [adenosine 5'-(α , β -methylene)diphosphate, AOPCP], 通过抑制 5'-核苷酸酶活性阻断血浆中三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP)、ADP 和一磷酸腺苷 (adenosine monophosphate, AMP) 分解生成腺苷; (2) 双嘧达莫, 通过抑制平衡核苷转运体 1 (equilibrative nucleoside transporter 1, ENT1) 阻断腺苷向细胞内转运; (3) 红-9-(2-羟基-3-壬基) 腺嘌呤 [erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl) adenine, EHNA]、脱氧柯福霉素, 通过抑制腺苷脱氨酶 (adenosine deaminase, ADA) 活性阻断细胞内、外腺苷代谢生成肌苷; (4) 5-碘代杀结核菌素, 通过抑制腺苷激酶活性阻断细胞内腺苷生成 AMP。测定血浆腺苷浓度采用的终止液多包括上述部分或全部组分。血液标本预处理后的进一步测定相对简单, 可采用高效液相色谱^[10]或液相色谱-串联质谱^[11]等技术测定腺苷浓度。

除加入终止液处理血液标本外, 也有研究采用腺苷检测试剂盒测定血浆腺苷浓度^[12]。腺苷检测试剂盒是一种较为方便的测定血浆腺苷浓度的方法, 其原理为腺苷经一系列酶促反应得到的中间产物与荧光探针结合, 通过测定荧光值获得腺苷浓度。但目前研究多采用采样后立即加入终止液测定血浆腺苷浓度的方法, 腺苷检测试剂盒在临床研究中应用较少。

2 替格瑞洛对血浆腺苷浓度影响的临床研究

多认为替格瑞洛的生物多效性与腺苷密切相关, 因而使替格瑞洛对血浆腺苷浓度影响的研究

日益增多, 但相关研究结果并不一致。有研究显示替格瑞洛升高血浆腺苷浓度, 认为血浆腺苷浓度升高是替格瑞洛生物多效性的原因。Bonello 等^[10]纳入 60 例拟行经皮冠状动脉介入治疗的急性冠状动脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS) 患者, 随机给予标准剂量替格瑞洛或氯吡格雷, 同时招募健康志愿者作为对照, 测定服药前和服药后 6 h 血浆腺苷浓度。结果显示, 服药后 6 h 服用替格瑞洛患者血浆腺苷浓度高于服用氯吡格雷患者 (1.5 $\mu\text{mol/L}$ vs 0.68 $\mu\text{mol/L}$, $P < 0.01$) 和健康志愿者 (1.5 $\mu\text{mol/L}$ vs 0.6 $\mu\text{mol/L}$, $P < 0.01$); 服药后 6 h, 替格瑞洛可明显抑制红细胞摄取腺苷, 氯吡格雷对红细胞摄取腺苷没有影响; 服用替格瑞洛和氯吡格雷的患者腺苷脱氨酶活性差异无统计学意义。Li 等^[13]纳入 68 例 ACS 患者, 给予标准剂量替格瑞洛或氯吡格雷, 在服药前和服药后 48 h 采用腺苷检测试剂盒测定血浆腺苷浓度, 结果显示替格瑞洛升高患者的血浆腺苷浓度 [基线水平为 (2.66 \pm 0.58) $\mu\text{mol/L}$, 服药后与基线水平的差值为 1.04 $\mu\text{mol/L}$ (0.86~1.41 $\mu\text{mol/L}$)], 而氯吡格雷对血浆腺苷浓度几乎没有影响 [基线水平为 (2.63 \pm 0.54) $\mu\text{mol/L}$, 服药后与基线水平的差值为 0.04 $\mu\text{mol/L}$ (-0.25~0.26 $\mu\text{mol/L}$)]。

但也有研究显示替格瑞洛对血浆腺苷浓度无影响。Orme 等^[14]纳入 180 例拟行经皮冠状动脉介入治疗的稳定性冠心病患者, 随机给予标准剂量替格瑞洛 (180 mg 负荷, 90 mg 每天 2 次维持)、低剂量替格瑞洛 (180 mg 负荷, 60 mg 每天 2 次维持) 或氯吡格雷 (600 mg 负荷, 75 mg 每天 1 次维持), 测定给予负荷剂量后 2~4 h、连续服药 1 个月后服药前和服药后 2 h 的血浆腺苷浓度, 结果显示 3 组各时间点血浆腺苷浓度差异均无统计学意义。这一结果与 Ortega-Paz 等^[15]的研究结果一致。近期公布的一项随机、交叉、多中心研究纳入 54 例 ACS 患者, 在给予负荷剂量替格瑞洛后 1~2 h、连续服药 1 个月后服药前和服药后 2 h 分别测定血浆腺苷浓度, 结果显示与普拉格雷和氯吡格雷相比, 替格瑞洛没有明显升高血浆腺苷浓度^[16]。另一项纳入 40 例非 ST 段抬高型 ACS 患者的前瞻性、随机、平行、开放标记的研究显示, 与氯吡格雷相比, 服药后 30 d 替格瑞洛对血管内皮功能亦无明显改善作用^[17]。

张玲等^[18]以健康成年人为研究对象,给予单剂量替格瑞洛 180 mg 或氯吡格雷 300 mg,测定服药后 0、0.5、2、6、24 h 时血浆腺苷浓度。结果显示,替格瑞洛组血浆腺苷浓度在服药后 2 h 明显升高,6 h 以后迅速降至服药前水平并维持至 24 h,该动态变化与其抗血小板活性的动态变化一致;氯吡格雷在各时间点对血浆腺苷浓度均无明显影响。

3 影响血浆腺苷浓度测定结果的因素

3.1 测定方法 在上述研究中,除 Li 等^[13]采用腺苷检测试剂盒处理血液标本外,其余研究均采用终止液处理血液标本,但终止液成分及浓度均不相同^[10,14-16]。Ramakers 等^[9]总结既往血浆腺苷浓度测定方法,发现采用不同终止液测得的血浆腺苷浓度差别较大,不同研究间的测定值无法直接比较。Löfgren 等^[19]通过对不同终止液及采血后不同时间点处理的血液标本进行比较,提供了较优化的血液标本处理流程,有利于规范血浆腺苷浓度的测定方法,从而进一步研究替格瑞洛对血浆腺苷浓度的影响。此外,腺苷检测试剂盒的原理与液相色谱法不同,尚无研究比较 2 种方法测定结果的准确性。

3.2 测定时间点 既往研究除终止液成分及浓度不同外,测定时间点也各不相同,影响各研究结果的比较。体外研究显示,替格瑞洛浓度依赖性升高腺苷浓度^[20-21]。我们前期研究显示,给予健康人标准剂量替格瑞洛(180 mg 负荷,90 mg 每天 2 次维持)后,其血药浓度呈现一过性升高,随后下降逐渐达稳态^[22]。针对健康人的研究显示,服用负荷剂量替格瑞洛后,在不同时间点测得的血浆腺苷浓度也不相同^[18]。因此,不同时间点的测定结果不适合直接比较。

3.3 替格瑞洛剂量对血浆腺苷浓度的影响 体外研究显示,替格瑞洛一方面促进红细胞中 ATP 释放促进腺苷产生,其半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})为 14 $\mu\text{mol/L}$ ^[20];另一方面抑制红细胞通过 ENT1 对腺苷的摄取而增加腺苷浓度,其 IC_{50} 为 260 $\mu\text{mol/L}$ ^[21,23]。在体外条件下,随着替格瑞洛浓度升高腺苷浓度升高^[16]。但健康受试者服用临床标准剂量替格瑞洛(180 mg 负荷,90 mg 每天 2 次维持)后,替格瑞洛血药浓度呈一过性升高,随后降低并逐渐达稳态,其峰浓度约为 2.7 $\mu\text{mol/L}$ ^[22]。此外,体外研究采用细胞系或

洗脱红细胞,而在受试者血浆中替格瑞洛绝大多数与血浆蛋白结合,因此体外研究中替格瑞洛的有效浓度远高于体内。Van den Berg 等^[24]以健康受试者作为研究对象,发现在体内负荷剂量替格瑞洛不影响血浆腺苷浓度和红细胞摄取腺苷,而在体外只有超过生理浓度(1×10^{-4} mol/L)的替格瑞洛才可明显抑制红细胞摄取腺苷。

上述研究结果提示,给予临床标准剂量替格瑞洛后,受试者循环中替格瑞洛浓度相对较低,对血浆腺苷浓度影响较小甚至没有影响。

4 小结

替格瑞洛生物多效性与腺苷生物效应有诸多相似之处,相关机制研究也多建立在替格瑞洛升高血浆腺苷浓度的基础上,因此明确替格瑞洛对血浆腺苷浓度的影响至关重要。近年,针对替格瑞洛对血浆腺苷浓度影响的研究逐渐增多,但研究结果并不一致,各研究的研究设计及腺苷测定方法不同,也使研究结果的比较存在困难。标准化的终止液配比和血浆腺苷浓度测定流程有助于解决上述问题。下一步研究应针对临床冠心病患者,测定其服用替格瑞洛后血浆腺苷浓度的动态变化,以及药物浓度达稳态后血浆腺苷浓度的变化及其幅度,从而进一步研究替格瑞洛生物多效性与腺苷的关系,并探索替格瑞洛生物多效性的机制。

【参考文献】

- [1] CATTANEO M, SCHULZ R, NYLANDER S. Adenosine-mediated effects of ticagrelor: evidence and potential clinical relevance[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 63: 2503-2509.
- [2] NANHWAN M K, LING S, KODAKANDLA M, NYLANDER S, YE Y, BIRNBAUM Y. Chronic treatment with ticagrelor limits myocardial infarct size: an adenosine and cyclooxygenase-2-dependent effect[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34: 2078-2085.
- [3] VILAHUR G, GUTIÉRREZ M, CASANI L, VARELA L, CAPDEVILA A, PONS-LLADÓ G, et al. Protective effects of ticagrelor on myocardial injury after infarction[J]. *Circulation*, 2016, 134: 1708-1719.
- [4] WALLENTIN L, BECKER R C, BUDAJ A, CANNON C P, EMANUELSSON H, HELD C, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes[J]. *N Engl J Med*, 2009, 361: 1045-1057.
- [5] BONACA M P, BRAUNWALD E, SABATINE M S. Long-

- term use of ticagrelor in patients with prior myocardial infarction[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373: 1274-1275.
- [6] WITTFELDT A, EMANUELSSON H, BRANDRUP-WOGENSEN G, VAN GIEZEN J J, JONASSON J, NYLANDER S, et al. Ticagrelor enhances adenosine-induced coronary vasodilatory responses in humans[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 61: 723-727.
- [7] GARCIA-DORADO D, OTAEGUI I, RODRIGUEZ PALOMARES J F, EVANGELISTA A, PINEDA V, RUIZ SALMERON R, et al. Primary results of the PROMISE trial: myocardial protection with intracoronary adenosine given before reperfusion in patients with STEMI[J/OL]. *Eur Heart J*, 2013, 34(Suppl 1): 3736. doi: 10.1093/eurheartj/eh309.3736.
- [8] MINNER S A, SIMONE P, CHUNG B B, SHAH A P. Successful reversal of bradycardia and dyspnea with aminophylline after ticagrelor load[J]. *J Pharm Pract*, 2018, 31: 112-114.
- [9] RAMAKERS B P, PICKKERS P, DEUSSEN A, RONGEN G A, VAN DEN BROEK P, VAN DER HOEVEN J G, et al. Measurement of the endogenous adenosine concentration in humans *in vivo*: methodological considerations[J]. *Curr Drug Metab*, 2008, 9: 679-685.
- [10] BONELLO L, LAINE M, KIPSON N, MANCINI J, HELAL O, FROMONOT J, et al. Ticagrelor increases adenosine plasma concentration in patients with an acute coronary syndrome[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 63: 872-877.
- [11] HUI Y, ZHAO S S, LOVE J A, ANSLEY D M, CHEN D D. Development and application of a LC-MS/MS method to quantify basal adenosine concentration in human plasma from patients undergoing on-pump CABG surgery[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2012, 885/886: 30-36.
- [12] VIJAYAMAHANTESH, AMIT A, DIKHIT M R, MISHRA A, SINGH A K, DAS V N, et al. Adenosine generated by ectonucleotidases modulates the host immune system during visceral leishmaniasis[J]. *Cytokine*, 2017, 91: 170-179.
- [13] LI X, WANG Q, XUE Y, CHEN J, LV Q. Ticagrelor compared with clopidogrel increased adenosine and cyclic adenosine monophosphate plasma concentration in acute coronary syndrome patients[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2017, 120: 610-614.
- [14] ORME R C, PARKER W A E, THOMAS M R, JUDGE H M, BASTER K, SUMAYA W, et al. Study of two dose regimens of ticagrelor compared with clopidogrel in patients undergoing percutaneous coronary intervention for stable coronary artery disease (STEEL-PCI)[J/OL]. *Circulation*, 2018. pii: CIRCULATIONAHA.118.034790. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.034790.
- [15] ORTEGA-PAZ L, BRUGALETTA S, ARIOTTI S, AKKERHUIS K M, KARAGIANNIS A, WINDECKER S, et al. Adenosine and ticagrelor plasma levels in patients with and without ticagrelor-related dyspnea[J]. *Circulation*, 2018, 138: 646-648.
- [16] ARIOTTI S, ORTEGA-PAZ L, VAN LEEUWEN M, BRUGALETTA S, LEONARDI S, AKKERHUIS K M, et al. Effects of ticagrelor, prasugrel, or clopidogrel on endothelial function and other vascular biomarkers: a randomized crossover study[J]. *JACC Cardiovasc Interv*, 2018, 11: 1576-1586.
- [17] LIM S, CHOO E H, KIM C J, CHOI I J, LEE K Y, HWANG B H, et al. Ticagrelor does not improve endothelial dysfunction in stable survivors of acute coronary syndrome[J/OL]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2019: 1074248419841640. doi: 10.1177/1074248419841640.
- [18] 张玲,王健宇,徐启耀,孟凡鹏,王文志,张梅. 负荷剂量替格瑞洛对健康成年人腺苷动态生成及其抗血小板作用的相关性[J]. *山东医药*, 2018, 58: 46-48.
- [19] LÖFGREN L, PEHRSSON S, HÄGGLUND G, TJELLSTRÖM H, NYLANDER S. Accurate measurement of endogenous adenosine in human blood[J/OL]. *PLoS One*, 2018, 13: e0205707. doi: 10.1371/journal.pone.0205707.
- [20] OHMAN J, KUDIRA R, ALBINSSON S, OLDE B, ERLINGE D. Ticagrelor induces adenosine triphosphate release from human red blood cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 418: 754-758.
- [21] ARMSTRONG D, SUMMERS C, EWART L, NYLANDER S, SIDAWAY J E, VAN GIEZEN J J. Characterization of the adenosine pharmacology of ticagrelor reveals therapeutically relevant inhibition of equilibrative nucleoside transporter 1[J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2014, 19: 209-219.
- [22] LI P, GU Y, YANG Y, CHEN L, LIU J, GAO L, et al. Low-dose ticagrelor yields an antiplatelet efficacy similar to that of standard-dose ticagrelor in healthy subjects: an open-label randomized controlled trial[J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 31838. doi: 10.1038/srep31838.
- [23] VAN GIEZEN J J, SIDAWAY J, GLAVES P, KIRK I, BJÖRKMAN J A. Ticagrelor inhibits adenosine uptake *in vitro* and enhances adenosine-mediated hyperemia responses in a canine model[J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2012, 17: 164-172.
- [24] VAN DEN BERG T N, EL MESSAOUDI S, RONGEN G A, VAN DEN BROEK P H, BILOS A, DONDEERS A R, et al. Ticagrelor does not inhibit adenosine transport at relevant concentrations: a randomized cross-over study in healthy subjects *in vivo*[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10: e0137560. doi: 10.1371/journal.pone.0137560.