

[文章编号] 1007-3949(2003)11-05-0455-04

•临床研究•

阿托伐他汀对高脂血症患者血小板聚集反应的影响

范伯丽¹, 程颖¹, 房家智¹, 蒋宝琦¹, G Neil Thomas², Julian AJH Critchley², Brian Tomlinson²

(1. 北京大学深圳医院, 广东省深圳市 518036; 2. 香港中文大学威尔斯亲王医院内科及药物治疗学系, 香港沙田新界)

[关键词] 药理学; 药物对高脂血症患者血小板聚集反应的影响; 血小板聚集试验; 阿托伐他汀; 胆固醇; 胶原; 高脂血症

[摘要] 观察降血脂药阿托伐他汀作用于高脂血症患者的血小板聚集反应。测试全血血小板聚集对各种诱导剂的反应性及实验的重复性, 并选择胶原作为诱导剂进行全血血小板聚集反应检测。30 个高脂血症患者接受为期 16 周的治疗, 用药剂量递增, 从每日用药 10、20、40 mg, 到 80 mg, 均分别用药 4 周, 直至患者血脂水平达到靶水平以下。分别在最大剂量用药期及停药后 4 周检测患者的血小板聚集反应、血小板计数、平均血小板体积、总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇及甘油三酯水平。总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇及甘油三酯水平在停药后显著回升(5.0±1.1、3.0±1.0、2.2±3.3 mmol/L 比 9.0±3.1、6.8±1.5、5.0±12.4 mmol/L, $P < 0.001$)。与停药后 4 周相比, 在最大剂量用药期, 患者全血血小板聚集反应显著降低(自 19.0±3.1 Ω 降至 17.1±4.6 Ω, $P < 0.05$), 而高密度脂蛋白胆固醇、血小板计数及平均血小板体积不受影响。表明阿托伐他汀能有效降低高脂血症患者的血脂水平及改善血小板聚集功能。

[中图分类号] R96

[文献标识码] A

Effect of Atorvastatin Treatment on Platelet Aggregation in Whole Blood in the Patients with Hypercholesterolaemia

FAN Bo-Li¹, CHENG Ying¹, FANG Jia-Zhi¹, JIANG Bao-Qi¹, G Neil Thomas², Julian AJH Critchley², Brian Tomlinson²

(1. Central Laboratory, Beijing University Shenzhen Hospital, Shenzhen, Guangdong 518036, China; 2. Department of Medicine and Therapeutics, The Chinese University of Hong Kong, Shatin, Hong Kong)

[KEY WORDS] Atorvastatin; Total Cholesterol; Collagen; Hypercholesterolaemia; Platelet Aggregation; Platelet Count

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of the new potent 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitor, atorvastatin, on platelet aggregation in Chinese patients with hypercholesterolaemia. **Methods** Four agonists to induce platelet aggregation in whole blood were tested in normal subjects. The platelets showed good response to collagen in vitro but poor response to adenosine diphosphate (ADP) and adrenaline. The aggregation response to collagen 1.0 and 2.5 mg/L was assessed in 30 patients who had been receiving atorvastatin for 16 weeks, titrated at 4-week intervals through 10, 20, 40 and 80 mg daily until target low density lipoprotein cholesterol (LDLC) levels were achieved. **Results** The tests were repeated 4-weeks after stopping therapy. Withdrawal of atorvastatin resulted in the expected increases (all $P < 0.001$) in total cholesterol (TC), triglycerides (TG) and LDLC from 5.0±1.1, 2.2±3.3, 3.0±1.0 mmol/L to 9.0±3.1, 5.0±12.4, 6.8±1.5 mmol/L respectively without significant change in high density lipoprotein cholesterol. Platelet count and volume remained unchanged after cessation of therapy and the slope and magnitude of the platelet aggregation curve in response to collagen 1.0 mg/L was unchanged whereas the amplitude of the response to collagen 2.5 mg/L increased from 17.1±4.6 Ω to 19.0±3.1 Ω without change in slope. **Conclusion** We concluded that atorvastatin treatment produced large reductions in TC, LDLC and TG, and that the only change seen in whole blood platelet aggregation was a small but significant reduction in the amplitude of the response to collagen 2.5 mg/L.

[收稿日期] 2003-02-24 [修回日期] 2003-07-11

[作者简介] 范伯丽, 女, 1963 年出生, 云南省昆明市人, 博士, 主治医师, 1997 年至 2002 年在香港中文大学内科及药物治疗学系攻读博士学位, 主要从事循证医学研究及心血管药物研究, 现在北京大学深圳医院从事心血管内科工作; E-mail: fanboliqiuyun@hotmail.com。程颖, 男, 1964 年出生, 安徽省人, 副主任医师, 双学士, 1988 年毕业于华西医科大学, 现在北京大学深圳医院从事心血管外科工作和心血管药物研究工作; E-mail: chengying@hotmail.com。Brian Tomlinson, 1950 年出生, 英国人, 1973 年毕业于伦敦大学 Middlesex 医学院, 1976 年获伦敦大学医学博士学位, 主要从事临床药理研究, 现为香港中文大学内科及药物治疗学系教授; E-mail: btomlinson@cuhk.edu.hk。

高脂血症常伴血小板聚集反应增高^[1,2]。3-羟-3-甲戊二酰辅酶 A (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A, HMG-CoA) 还原酶抑制剂他汀类降脂药能有效地降低高脂血症患者的总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)及甘油三酯(triglycerides, TG)水平, 并且此类降脂药还有降低血小板聚集反应的作用^[3-7]。然而, 不同他汀类对血小板聚集反应的影

响有所不同。普伐他汀每日 20~40 mg, 共服 4 周, 能有效降低高脂血症患者的 TC 和 LDLC 水平, 却增加体内检测的全血血小板聚集性, 而体外检测的二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP) 诱导的浓缩血小板聚集反应不受影响^[4]。辛伐他汀每日 20~40 mg, 用药 8 个月, 可降低家族性高脂血症患者的体外检测的 ADP 及胶原诱导的浓缩血小板聚集反应^[3]。另有报道, 辛伐他汀每日 20 mg 用药 12 周对高脂血症患者的体内检测的全血血小板聚集性无影响^[7]。氟伐他汀和洛伐他汀每日 20 mg 用药 24 周可降低高脂血症患者体外检测的胶原诱导的全血血小板聚集反应, 同时降低血小板的胆固醇/磷脂比例^[5], 但体外检测 ADP 诱导的浓缩血小板聚集反应却不受影响^[6]。

阿托伐他汀是一种新型 3-羟基-3-甲基-戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂, 能更加有效地降低血脂水平, 与等剂量的辛伐他汀、普伐他汀、洛伐他汀和氟伐他汀比较, 它的降脂效果分别强 38%、46% 和 51%^[8]。阿托伐他汀对血小板聚集反应的作用尚未见报道, 在此, 我们对阿托伐他汀在血小板聚集反应方面的作用进行研究并报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

纳入研究个体共 45 人, 包括 30 个接受阿托伐他汀治疗的高脂血症患者, 其中男 7 例, 女 23 例, 年龄 20~75 岁; 11 个不接受阿托伐他汀治疗的高脂血症患者, 其中男 4 例, 女 7 例, 年龄 20~75 岁; 另有 4 个正常个体。整个研究设计及方法通过香港中文大学医学研究伦理委员会批准, 所有参加研究的个体均签署书面同意书。参加者在临床实验前 2 周及整个服药期间禁服抗血小板类药。

1.2 试剂与方法

诱导剂胶原、ADP 及肾上腺素购于美国 Chrono Log 公司, 试剂储存液储于 -20℃ 冰箱, 工作液新鲜配制。ADP 配制成 1、5、10 和 20 $\mu\text{mol/L}$ 工作浓度系列, 肾上腺素配制成 1、10 和 50 $\mu\text{mol/L}$ 工作浓度系列, 胶原配制成 1、2.5、5、7.5 和 10 mg/L 工作浓度系列。全血血小板聚集实验的方法见文献[9, 10], 简述如下: 肘前静脉取空腹静脉血, 按 9:1 的比例加入 3.8% 的枸橼酸钠抗凝, 再取 0.5 mL 血标本, 用等量生理盐水稀释, 37℃ 预温 10 min, 用发光离子化钙聚集仪(美国 Chrono Log 公司产品) 检测。聚集仪内的标本搅拌速度为 1 000 r/min, 血小板聚集指标的

测量为分别测量加诱导剂后 15 min 内聚集曲线的最大幅度及最大坡度, 单位为欧姆(Ω) 和 Ω/min (曲线上升 10 mm 为 5 Ω , 上限为 25 Ω)。诱导剂的阈值聚集浓度规定为 5 min 内至少引起 50%~60% 聚集的最低浓度^[1, 11]。所有检测在 1.5 h 内完成。测试全血血小板聚集实验重复性及标本存放时间对实验的影响, 则是在 11 份不同标本中, 于抽血后 15、45、75、105、135 和 165 min, 分别对血小板聚集反应进行检测。

1.3 实验设计

接受阿托伐他汀治疗的 30 例高脂血症患者, 服药前 4 周清淡饮食。实验开始时服用 4 周安慰剂, 然后递增服用阿托伐他汀, 每天 10 mg, 共服 4 周, 每天 20 mg, 共服 4 周, 每天 40 mg, 共服 4 周, 到每天 80 mg, 共服 4 周。并定期监测血脂水平及其他研究指标。在服药过程中, 如患者血脂水平很快降至靶水平(伴其他心血管疾病高危因素的患者 LDLC 低于 3.5 mmol/L, 冠心病患者 LDLC 低于 3.0 mmol/L 和 TG 低于 2.3 mmol/L), 服药剂量不再递增。为避免长期服药过程中, 其他因素干扰血小板聚集检测, 我们分别在最大服药剂量时(其中 6 位患者每日服药 40 mg, 24 位患者每日服药 80 mg) 及停药后 4 周比较患者的血小板聚集反应、血小板计数、平均血小板体积、TC、LDLC、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC) 及 TG 水平。

1.4 统计学处理

正态分布变量的结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 非正态分布变量先进行对数转换, 其结果以 95% 可信限表示。正态分布变量的差别用 t 检验, 非正态分布变量的差别用秩合检验, 多组变量的差别则用 Newmann-Keuls 检验, $P < 0.05$ 为差别具统计学显著性。

2 结果

2.1 血小板聚集试验

在 4 例正常个体的标本中, 胶原能诱导其全血血小板聚集反应, 胶原的阈值聚集浓度为 1 mg/L , 在浓度为 2.5 mg/L 时能诱导最大聚集反应; 而 ADP 只能诱导较微弱的血小板聚集反应, 肾上腺素则不能诱导血小板聚集反应。在本研究中, 我们采用胶原浓度 1 mg/L 和 2.5 mg/L 诱导全血血小板聚集反应。在 11 份标本中, 标本在采血后 165 min 检测与在采血后 15 min 检测比较, 胶原浓度在 2.5 mg/L 时诱导的全血血小板聚集反应的最大幅度显著降低(12.22 \pm 3.35 Ω 比 19.91 \pm 3.45 Ω , $P < 0.05$), 而在

采血后 15、45、75、105 和 135 min, 胶原诱导全血血小板聚集反应的各项指标均无显著变化(图 1, Figure 1), 提示在采血后 2 h 内完成检测, 其检测结果较稳定。本实验的可重复性描述如下: 胶原浓度 1 mg/L 诱导全血血小板聚集坡度的组内及组间变异系数 (coefficient of variation, CV) 分别为 11% 及 14%, 幅度的组内及组间 CV 分别为 17% 及 14%; 胶原浓度 2.5 mg/L 诱导全血血小板聚集坡度的组内及组间 CV 分别为 16% 及 14%, 幅度的组内及组间 CV 分别为 16% 及 14%。

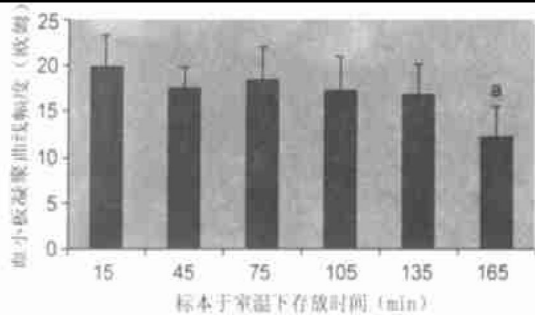


图 1. 血小板聚集反应检测的稳定性 a: $P < 0.05$, 标本存放 165 min 后, 血小板聚集反应幅度显著降低。

Figure 1. The stability of the platelet aggregation measurement ($n = 11$)

2.2 阿托伐他汀对血脂水平、血小板计数、平均血小板体积及血小板聚集反应的作用

停药 4 周后, TC、LDLC 及 TG 水平与最大剂量用药时比较显著回升 ($P < 0.001$), 最大剂量用药期间, 阿托伐他汀降低 TC、LDLC、TG 分别为 44%、56%、39%。HDLc、血小板计数及平均血小板体积不受影响。胶原浓度 2.5 mg/L 诱导全血血小板聚集的最大幅度在最大剂量用药期间显著低于停药后 4 周时的指标 ($17.1 \pm 4.6 \Omega$ 比 $19.5 \pm 3.1 \Omega$, $P < 0.05$), 而其他指标无变化(表 1, Table 1)。在用药剂量递增期间, 所有检测指标无显著变化, 停药后 8 周的所有检测指标与停药后 4 周时比较也无变化。而坡度改变未达统计学意义。在整个研究过程中, 参加研究的个体未发生严重心脑血管事件(如脑血管意外或心肌梗死)。

3 讨论

在我们的研究中, 阿托伐他汀能有效地降低高脂血症患者血清的 TC、LDLC 及 TG 水平(分别降低 44%、56% 及 39%), 并伴随患者血小板聚集反应的降低, 然而胶原 2.5 mg/L 激发的血小板聚集反应的降低幅度(12%)与血脂水平降低幅度并不一致。目

前认为, 高脂血症患者常伴血小板聚集反应增高是由于高脂血症作用于血小板及内皮细胞所致^[12, 13]。体外实验表明, 双倍增加 LDLc 及氧化的 LDLc 能提

表 1. 血脂、血小板计数、血小板体积及血小板聚集反应在治疗期与停药后的比较

Table 1. The values of lipid levels, platelet counts, platelet volumes and platelet aggregation on and off the atorvastatin treatment

指 标	最大剂量用药	停药 4 周
总胆固醇 (mmol/L)	5.0 ± 1.1	9.0 ± 3.1^b
低密度脂蛋白胆固醇 (mmol/L)	3.0 ± 1.0	6.8 ± 1.5^b
高密度脂蛋白胆固醇 (mmol/L)	1.25 ± 0.35	1.29 ± 0.39
甘油三酯 (mmol/L)	$1.4 (1.0 \sim 1.9)$	$2.3 (1.6 \sim 3.4)^b$
血小板计数 ($\times 10^9/L$)	224 ± 69	225 ± 56
平均血小板体积 (fL)	10.1 ± 1.7	9.3 ± 2.4
1 mg/L 胶原时坡度 (Ω/min)	3.8 ± 1.5	3.6 ± 1.3
血小板聚集反应幅度 (Ω)	8.2 ± 4.3	8.5 ± 3.7
2.5 mg/L 胶原时坡度 (Ω/min)	7.7 ± 1.9	7.4 ± 1.4
血小板聚集反应幅度 (Ω)	17.1 ± 4.6	19.5 ± 3.1^a

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.001$, 与最大剂量用药比较。

高 40%~58% 全血血小板聚集反应, 却不能提高浓缩血小板聚集反应^[14]。提示降低高脂血症的血脂水平可能有益于纠正高脂血症患者增高的血小板聚集反应。

体内及体内外结合的研究表明, 降脂药他汀类虽有效降低血脂水平, 但并不总伴随增高血小板聚集反应的纠正, 这可能与血小板聚集的影响因素及药物的性质有关。血小板聚集受内皮细胞功能、体内氧化状态和其他心血管高危因素如高血压、糖尿病等及血小板聚集反应检测方法的影响。亲水性他汀类如氟伐他汀和洛伐他汀能降低血小板聚集反应^[4, 5]。此外, 用药的剂量、用药时间的长短及运用全血或浓缩血小板悬液检测聚集功能所得结果也有所不同^[3, 7]。有文献报道, 用全血检测药物对血小板聚集反应的影响比用浓缩血小板检测更接近生理状态, 因血小板外的血细胞也参与药物在体内的代谢^[10, 14, 15]。在方法学上, 应用流式细胞仪检测血小板聚集所应用的诱导剂 ADP 及胶原半数有效量是应用聚集仪检测的 $1/20$ ^[16, 17]。故本实验所采用的方法非最敏感方法, 这或许可以部分解释血小板聚集反应的改变较血脂水平的改变小及胶原 1 mg/L 激发的血小板聚集反应未受影响。

总之, 本研究表明, 在治疗高脂血症时, 阿托伐

他汀能有效地改善血脂水平,并能纠正高脂血症患者增高的血小板聚集反应。其机理尚有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Tremoli E, Maderna P, Colli S, Morazzoni G, Sirtori M, Sirotri C. Increased platelet sensitivity and thromboxane B₂ formation in type ② hyperlipoproteinaemic patients. *Eur J Clin Invest*, 1984, **14** (5): 329-333
- [2] Smith CCT, Wilson AP, Prichard BNC, Betteridge DJ. Platelet noradrenaline release in patients with familial hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest*, 1989, **19** (3): 246-250
- [3] Schror K, Lobel P, Stihlinger-Thiessen E. Simvastatin reduces platelet thromboxane formation and restores normal platelet sensitivity against prostacyclin in type ②a hypercholesterolemia. *Eicosanoids*, 1989, **2** (1): 39-45
- [4] Broijersens A, Eriksson M, Larsson PT, Beck O, Berglund L, Angelin B, et al. Effects of selective LDL-apheresis and pravastatin therapy on platelet function in familial hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest*, 1994, **24** (7): 488-498
- [5] Osamah H, Mira R, Sorina S, Sholmo K, Michael A. Reduced platelet aggregation after fluvastatin therapy is associated with altered platelet lipid composition and drug binding to the platelet. *Brit J Clin Pharmacol*, 1997, **44** (1): 77-83
- [6] Filippova VG, Mantsurova AV, Zadionchenko VS, Zaporozhets TP. The effect of a new hypolipemic preparation fluvastatin on rheological indices and hemostatic parameters. *Terapevt Arkh*, 1997, **69** (4): 43-45
- [7] Broijersens A, Eriksson M, Leijd B, Angelin B, Hjendahl P. No influence of simvastatin treatment on platelet function in vivo in patients with hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17** (2): 273-278
- [8] Jones P, Kafonek S, Laurora I, Hunninghake D. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin, and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*, 1998, **81** (5): 582-587
- [9] Sweeney JD, Hoernig LA, Michnik A, Fitzpatrick JE. Whole blood aggregometry: Influence of sample collection and delay in study performance on test results. *Am J Clin Pathol*, 1989, **92** (5): 676-679
- [10] Knofler R, Urano T, Malyszko J, Takada Y, Takada A. In vitro effect of endothelin 1 on collagen, and ADP-induced aggregation in human whole blood and platelet rich plasma. *Thromb Res*, 1995, **77** (1): 69-78
- [11] Davi G, Averna M, Novo S, Barbagallo CM, Mogavero A, Notarbartolo A, et al. Effects of synvinolin on platelet aggregation and thromboxane B₂ synthesis in type ②a hypercholesterolemic patients. *Atherosclerosis*, 1989, **79** (1): 79-83
- [12] 田庆印, 吴葆杰. 氧化型低密度脂蛋白与血栓形成. *中国动脉硬化杂志*, 2000, **8** (3): 279
- [13] 沈涛, 刘秉文. 血浆脂蛋白对凝血及纤溶活性的影响. *中国动脉硬化杂志*, 2003, **11** (1): 77
- [14] Tornvall P, Chirkova L, Toverud KD, Horowitz JD, Chirkov Y. Native and oxidized low density lipoproteins enhance platelet aggregation in whole blood. *Thromb Res*, 1999, **95** (4): 177-183
- [15] Holmsen H. Significance of testing platelet functions in vitro. *Eur J Clin Invest*, 1994, **24** (Suppl 1): 3-8
- [16] Jy W, Horstman LL, Park H, Mao WW, Valant P, Ahn YS. Platelet aggregates as markers of platelet activation: Characterization of flow cytometric method suitable for clinical applications. *American Journal of Hematology*, 1998, **57** (1): 33-42
- [17] Li N, Wallen NH, Ladjevardi M, Jendahl P. Effects of serotonin on platelet activation in whole blood. *Blood Coagul Fibrin*, 1997, **8** (8): 517-523