

普伐他汀在体外对血小板聚集和血小板 TXB₂、cAMP 含量的影响^①

徐立卓^② 马丽萍 尹松梅 冯坚红

(中山医科大学孙逸仙纪念医院内科; 广州, 510120)

提 要 降低血胆固醇和血小板的高反应性是动脉粥样硬化和血栓性心脑血管疾病防治的主要措施。本文探讨了普伐他汀在体外对血小板聚集和血小板血栓烷素 B₂(TXB₂)及环磷酸腺苷(cAMP)含量的影响。血源标本来自28例高胆固醇血症(HC)病人和10例健康体检者。结果显示,HC病人的血小板功能增强。与加药前比较,不同浓度的普伐他汀(0.03 μmol/L, 0.3 μmol/L)均可降低HC组的小血小板聚集反应,降低血小板 TXB₂量,增加血小板 cAMP 量。提示普伐他汀具有抗血小板作用。

主题词 普伐他汀; 高脂血症; 血小板聚集; 血栓烷素 B₂; 环磷酸腺苷

中图分类号 R 589.2; 543.3

高胆固醇血症(hypercholesterolemia, HC)时,血小板的反应性明显增高,两者在动脉粥样硬化和血栓性心脑血管疾病的发生演变过程中起着不可分割的协同作用。因此,降低血胆固醇和血小板的高反应性应成为动脉粥样硬化斑块消退研究的重要课题。在血胆固醇降低的同时,增高的血小板反应性有何相关性改变,其作用机理如何目前尚无深入的研究。本文的目的是观察普伐他汀(pravastatin)在体外对血小板聚集反应(PAGT)、血小板血栓烷素 B₂(TXB₂)及环磷酸腺苷(cAMP)含量的影响,以期探讨使用调整血脂药后动脉粥样硬化病变消退的可能机制。

1 材料和方法

1.1 分组与采血

HC组28例,其中男性11例,女性17例,均为本院门诊病人,平均年龄57岁。两次的血清总胆固醇水平均 ≥ 6.24 mmol/L 和(或)低密度脂蛋白胆固醇 ≥ 4.16 mmol/L,临床上排除继发性HC,近2月无高血压、急性心肌梗塞、心绞痛和缺血性脑血管病,至少1月内未用过调整血脂药、抗血小板药和钙拮抗剂。正常组10例,其中男5例,女5例,均为本院健康体检者,平均年龄51岁。2周内未服任何药物。

采血方法:禁食12h,坐位休息1/2h后于肘静

脉部位采血6mL,各3mL分别置于3.82%枸橼酸钠(1:9抗凝)和EDTA抗凝塑料试管,充分混匀,1000 r/min离心5min,取上层血浆即为富含血小板血浆(PRP);剩余血继续3500 r/min离心15min,上清液即为贫血小板血浆(PPP)。

1.2 试剂与药品

二磷酸腺苷(ADP)、花生四烯酸系 Sigma 公司产品;普伐他汀标准品由日本三共株式会社提供;阿司匹林(aspirin)标准品由东莞石龙制药厂提供;潘生丁(persantin)针剂由上海天丰药厂生产。TXB₂放免试剂盒由中国军事科学院生产,cAMP放免试剂盒由上海第二医科大学生产。

1.3 PAGT 的测定^[1]

按照比浊法,使用TYXN-91型血液凝集仪(上海通用医用仪器公司),选择不同浓度的普伐他汀(0.03 μmol/L, 0.3 μmol/L),测定加药前后ADP(2 μmol/L)诱导的血小板聚集率。以血小板最大聚集率(PAGT-Max%)为观察指标。以阿司匹林和潘生丁作为阳性对照药。

1.4 血小板 TXB₂的测定^[1]

取EDTA抗凝血制备PRP血浆,洗涤血小板2次,制备血小板悬液。调整血小板数为 $350 \times 10^9/L$ 。选择不同浓度的普伐他汀(0.03 μmol/L, 0.3 μmol/L),按放免法测定加药前后血小板 TXB₂含量。以阿司匹林为阳性对照药。

① 广东省科委自然科学基金资助课题; ② 第一作者,1939年出生,女,副教授

1.5 血小板 cAMP 的测定^[1]

取上述调整好的血小板悬液,选择不同浓度的普伐他汀(0.03 μmol/L, 0.3 μmol/L),按放免法测定加药前后血小板 cAMP 含量。以潘生丁作为阳性对照药。

1.6 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用配对 *t* 检验,随机区组方差分析。

2 结果

2.1 加药前血小板功能

HC 组 PAGT-Max 和血小板 TXB₂ 含量均高于正常组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),血小板 cAMP 也呈增高趋势,但差别无统计学意义(表1)。

表1 正常志愿者与高胆固醇血症(HC)病人的 PAGT-Max 及其血小板 TXB₂ 和 cAMP 含量的比较

	<i>n</i>	PAGT-Max (%)	TXB ₂ (ag)	cAMP (zmol)
正常组	10	57.97 ± 23.64	1.03 ± 0.54	4.39 ± 2.30
HC 组	28	78.92 ± 16.32 ²⁾	1.76 ± 1.25 ¹⁾	5.34 ± 2.78

与正常组比较,1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$

2.2 普伐他汀对 PAGT-Max、血小板 TXB₂ 及 cAMP 的影响

表2显示,与加药前比较,不同浓度的普伐他汀(0.03 μmol/L, 0.3 μmol/L)均可降低 HC 组 PAGT-Max,降低血小板 TXB₂,增加血小板 cAMP 量 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

不同浓度的普伐他汀(0.03 μmol/L, 0.3 μmol/L)也均可降低正常组 PAGT-Max ($P < 0.05$),增加血小板 cAMP 量 ($P < 0.01$)。对血小板 TXB₂ 有降低趋势,但无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表2 普伐他汀在体外对血小板功能的影响¹⁾

	正常组 (<i>n</i> = 10)			HC 组 (<i>n</i> = 28)		
	PAGT-Max	TXB ₂	cAMP	PAGT-Max	TXB ₂	cAMP
加药前	58.01 ± 23.58	1.03 ± 0.54	4.39 ± 2.3	78.53 ± 16.02	1.75 ± 1.25	5.34 ± 2.78
普伐他汀						
0.03 μmol/L	46.88 ± 16.23 ²⁾	0.86 ± 0.42	5.12 ± 2.04 ²⁾	70.39 ± 16.51 ³⁾	1.36 ± 0.82 ²⁾	5.95 ± 3.09 ³⁾
0.3 μmol/L	47.46 ± 18.21 ²⁾	0.99 ± 0.69	5.43 ± 2.83 ²⁾	68.16 ± 16.85 ³⁾	1.51 ± 1.02 ²⁾	5.94 ± 3.10 ³⁾
阿司匹林						
10 μmol/L	44.09 ± 26.83 ²⁾	0.77 ± 0.59 ²⁾	—	58.76 ± 16.53 ³⁾	1.21 ± 0.78 ²⁾	—
潘生丁						
10 μmol/L	48.46 ± 20.13 ³⁾	—	5.02 ± 2.17 ³⁾	63.34 ± 19.02 ³⁾	—	5.84 ± 3.06 ²⁾

1) 单位: PAGT-Max(%), TXB₂(ag), cAMP(zmol); 2) 与加药前比较, $P < 0.05$; 3) 与加药前比较, $P < 0.01$

3 讨论

在高胆固醇血症时引起血小板反应性增高的原因可能是:①通过血小板膜上脂蛋白受体使血小板脂质浓度发生改变;②血中脂质环境使血小板对 PGL₂ 的敏感性下降, TXA₂ 合成增多^[2]。普伐他汀是新一类 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶抑制剂,降脂效果无可置疑^[3],但对血小板功能影响尚无深入的研究。和田英夫^[4]在为期12周的普伐他汀治疗后发现,该药在降低血脂的同时,可以使 PAGT 和血小板粘附功能下降。Broijersen 等^[5]则认

为,该药可引起 PAGT 增高、血或尿中 β-血小板球蛋白及 TXB₂ 增加。血小板聚集和 TXB₂ 是反映血小板功能的主要指标,通过血小板花生四烯酸代谢生成的 TXA₂ (TXB₂ 是其稳定形式) 是血小板聚集的主要途径, cAMP 作为细胞内第二信使,通过不同的环节调节并抑制血小板的聚集。以往研究表明,潘生丁和阿司匹林分别通过抑制血小板膜磷酸二酯酶和花生四烯酸代谢中的环氧化酶,引起 TXA₂ 的合成减少,发挥抗血小板作用^[6]。本实验以阿司匹林和潘生丁作为阳性对照来观察普伐他汀对血小板的作用。普伐他汀是以活性的形式给药,口服后在体内不需代谢转化即可发挥治疗作用,支持体外药物实验和体

内活性药物的一致性^[7]。作者采用洗涤后血小板进行体外实验,排除了血浆脂质的影响,观察药物在不受胆固醇水平以及体内血栓形成诸因素,如血管内皮、抗凝及纤溶系统的干扰对血小板的作用。结果发现,无论是在 HC 组还是正常组,普伐他汀均可以使 PAGT 降低,同步测出血小板 cAMP 增加, TXB₂ 含量下降,结果与阿司匹林和潘生丁相似。提示普伐他汀降低血小板聚集功能可能也是通过花生四烯酸代谢途径和(或)cAMP 的增加。

动脉粥样硬化斑块的消退是诸多病理生理因素改变的综合结果,作者认为普伐他汀作为强效降脂药成为动脉粥样硬化有效的干预手段,与该药同时具有抗血小板作用密切相关;即血小板的高反应性在普伐他汀的直接作用下,产生相关性改变,对于动脉粥样硬化的预防及治疗具有重要意义。

参 考 文 献

- 1 阮长耿. 血小板,基础与临床. 上海:上海科学技术出版社,1987. 239
- 2 Tremoli E, Cillis S, Maderna P, *et al.* Hypercholesterolemia and platelet. *Semin Thromb*

Hemost,1993,19(2):115

- 3 Pravastatin multinational group. Effect of pravastatin in patients with serum total cholesterol levels from 5.2 to 7.8 mmol/L plus two additional atherosclerotic risk factors. *Am J Cardiol*,1993,72:1031
- 4 和田英夫. Pravastatin 对血小板功能的影响. *临床医药*,1988,4(11):2149
- 5 Broijersen A, Eriksson M, Larsson PT, *et al.* Effect of selective LDL-apheresis and pravastatin therapy on platelet function in familial hypercholesterolaemia. *Eur Clin Invest J*,1994,24(7):488
- 6 Persantin-aspirin reinfusion study research group. Persantin and aspirin in coronary heart disease. *Circulation*,1980,62:449
- 7 Ran HY. Antipyrine elimination is not affected by chronic administration of pravastatin (SQ 31000), a tissue selective HMG-CoA reductase inhibitor. *Clin Res*,1988,36(3):368A

(1996-05-13收稿 1996-05-29修回)

EFFECT OF PRAVASTATIN ON PLATELET AGGREGATION AND PLATELET TXB₂ AND cAMP *IN VITRO*

Xu Lizhuo Ma Liping Yin Songmei Feng Jianhong

(Department of Internal Medicine, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510120)

The improvement of hypercholesterolemia (HC) and increased platelet reactivity are essential measure in the treatment and prevention of atherosclerosis and thrombotic diseases. The present study was designed to assess the effects of pravastatin, a new antilipoprotein agent (HMG-CoA reductase inhibitor), on platelet function *in vitro*. The aim was to investigate its direct effect on platelet. Sample was obtained from 28 patients with HC and 10 healthy volunteers. The results showed that platelet aggregation (PAGT-Max) and thromboxane B₂ (TXB₂) in platelets was increased and cAMP was decreased in HC. In HC, ADP-induced platelet aggregation and TXB₂ in platelets were reduced, and cAMP in platelets was increased by pravastatin in two concentration (0.03 μmol/L, 0.3 μmol/L) *in vitro*. It was suggested that pravastatin might be involved in antiplatelet action, and play an active function in prevention and treatment of thrombotic diseases.

Subject headings pravastatin; hypercholesterolaemia; platelet aggregation; TXB₂; cAMP