

УДК 616.12-005.4-092-76

М. О. ХВИСЮК, О. В. БІЛЬЧЕНКО

/Харківська медична академія післядипломної освіти, Харків, Україна/

## Вплив антитромбоцитарних препаратів та антикоагулянтів на рівні P-селектину і галектину-3 у хворих зі стабільною стенокардією

### Резюме

Вивчення впливу антитромбоцитарної та антикоагулянтної терапії у хворих на стенокардію може дати обґрунтування індивідуалізації терапії, спрямованої на зниження залишкового серцево-судинного ризику, пов'язаного з системним запаленням.

**Мета** – вивчити зміни рівня нових біомаркерів запалення P-селектину і галектину-3 у хворих зі стабільною стенокардією в залежності від проведеної антитромбоцитарної та антикоагулянтної терапії.

**Матеріали та методи.** Обстежено 89 хворих на стенокардію. Всім хворим проводили визначення рівнів P-селектину, галектину-3 і hs-СРБ.

**Результати.** Загалом у групі обстежених хворих з верифікованою стабільною стенокардією середній рівень галектину-3 у плазмі становив  $12,2 \pm 5,5$  нг/мл, P-селектину –  $90,0 \pm 46,5$  нг/мл і hs-СРБ –  $6,2 \pm 4,2$  мг/л. При кореляційному аналізі не було виявлено взаємозв'язку між плазмовими рівнями P-селектину і hs-СРБ у обстежених хворих ( $r = -0,131$ ,  $p = 0,284$ ), що створює передумови для персоналізації терапії, спрямованої на зниження залишкового серцево-судинного ризику, пов'язаного із запаленням. При застосуванні клопідогрелю рівень P-селектину був достовірно нижчим ( $66,4 \pm 25,6$ ;  $p < 0,05$ ), ніж при застосуванні ацетилсаліцилової кислоти. На рівень галектину-3 антитромбоцитарна терапія достовірно не впливала. У групі хворих на стенокардію, які отримували терапію ривароксабаном, рівень P-селектину був достовірно значно нижчим, ніж у хворих, що не отримували терапію антикоагулянтами ( $73,1 \pm 21,1$  нг/мл і  $95,6 \pm 22,3$  нг/мл відповідно,  $p < 0,05$ ).

**Висновки.** Терапія клопідогрелем, на відміну від ацетилсаліцилової кислоти, приводить до зниження рівня P-селектину, що відображає зменшення активності тромбоцитарного компонента системної запальної відповіді при атеросклерозі. У хворих, які отримують терапію ривароксабаном, також спостерігають зниження рівня P-селектину.

**Ключові слова:** стенокардія, системне запалення, біомаркери, P-селектин, галектин-3, клопідогрель, терапія антикоагулянтами

В останні десятиліття серцево-судинна захворюваність і смертність в індустріально розвинених країнах має тенденцію до зниження, проте вона залишається на досить високому рівні, навіть при проведенні оптимальної терапії [1], що свідчить про наявність так званого залишкового серцево-судинного ризику, який значною мірою визначається наявністю у хворих системного запалення [2]. Крім використовуваного в якості стандарту оцінки рівня системного запалення у хворих високочутливого C-реактивного білка, який не поступається за прогностичною значимістю холестерину ЛПНЩ [3], запропонований ряд нових біомаркерів. Системна запальна відповідь реалізується через різні механізми, з активацією різних типів клітин, цитокінів, хемокінів, молекул адгезії, які можуть мати неоднаковий ступінь активації у хворих [4]. Одним із шляхів індивідуалізації терапії хворих з високим серцево-судинним ризиком є оцінка нових біомаркерів, у тому числі P-селектину і галектину-3, які на індивідуальному рівні відображають різні шляхи активації системної запальної відповіді. Вивчення впливу антитромбоцитарних препаратів та антикоагулянтів на ці біомаркери у хворих на стенокардію може дати обґрунтування індивідуалізації терапії, спрямованої на зниження залишкового серцево-судинного ризику, пов'язаного з системним запаленням.

**Мета дослідження** – вивчити зміни рівнів нових біомаркерів запалення – P-селектину і галектину-3 – у хворих зі стабільною стенокардією в залежності від проведеної терапії антитромбоцитарними препаратами і антикоагулянтами.

### Матеріали та методи дослідження

До дослідження було включено 89 хворих, у тому числі 27 жінок і 62 чоловіки у віці від 38 до 89 років (середній вік  $63,2 \pm 11,8$  років), у яких на підставі клінічних проявів, результатів навантажувальних проб і коронароангіографії була верифікована стабільна стенокардія відповідно до Рекомендацій Європейського товариства кардіологів 2013 року [5]. Всім хворим проводили стандартну терапію відповідно до цих рекомендацій, крім випадків протипоказань і непереносимості. Терапію пероральним антикоагулянтом ривароксабаном в дозі 10–20 мг/добу отримували 19 хворих зі стенокардією, що мали супутню фібриляцію передсердь; 70 хворих не отримували терапію препаратами цієї групи.

У включених у дослідження хворих, крім стандартних методів дослідження, визначали рівні нових біомаркерів запалення – P-селектину, галектину-3 і референтного маркера системного запалення – високочутливого СРБ (hs-СРБ). Для кількісного визна-

чення Р-селектину був використаний набір реагентів «Human sP-selectin Platinum ELISA». Мінімальна концентрація Р-селектину, яка визначалася, становила 0,2 нг/мл. Для кількісного визначення людського галектину-3 був використаний набір «Людський Галектин-3 Elisa». Мінімальна концентрація галектину-3, яка визначалася, становила 0,12 нг/мл. Для кількісного визначення hs-СРБ був використаний набір реагентів «СРБ-ІФА-Бест (високочутливий)». Обумовлена концентрація СРБ становила 0,1–10 мг/л. Специфічність аналізу забезпечувалася використанням моноклональних антитіл, що мають високу специфічність до СРБ. Аналіз впливу терапії проводили одноразово за фактом прийому хворим препаратів впродовж як мінімум 3 місяців до дослідження.

Статистичний аналіз проводили з використанням статистичної програми Excel for Windows із застосуванням параметричних методів при нормальному розподілі показників у вибірках. У групах порівняння визначали середні значення і стандартне відхилення. Достовірність відмінностей вибірок оцінювали з використанням t-критерію Стьюдента. Для оцінки взаємозв'язку показників виконували кореляційний аналіз з розрахунком коефіцієнтів парної кореляції і лінійну регресію.

## Результати та їх обговорення

Загалом у групі обстежених хворих з верифікованою стабільною стенокардією середній рівень галектину-3 в плазмі становив  $12,2 \pm 5,5$  нг/мл, Р-селектину –  $90,0 \pm 46,5$  нг/мл і hs-СРБ –  $6,2 \pm 4,2$  мг/л. При кореляційному аналізі у обстежених хворих не було виявлено взаємозв'язку між плазматичними рівнями Р-селектину і hs-СРБ ( $r = -0,131$ ,  $p = 0,284$ ). Слабка негативна кореляція між показниками не досягла достовірності. Також не було виявлено взаємозв'язку між плазматичними рівнями галектину-3 і hs-СРБ у хворих з ішемічною хворобою серця ( $r = 0,011$ ,  $p = 0,928$ ), що підтвердив лінійний регресивний аналіз. Проведений аналіз взаємозв'язку рівнів Р-селектину і галектину-3 у плазмі хворих зі стабільною стенокардією показав наявність достовірної кореляції рівнів аналізованих біомаркерів ( $r = 0,257$ ,  $p = 0,033$ ). Однак, при індивідуальному зіставленні рівнів біомаркерів у хворих, включених до дослідження, виявлено, що у частини хворих, із рівнем галектину-3 у плазмі нижче середнього в групі, були дуже високі рівні Р-селектину, який перевищував 200,0 нг/мл, що може свідчити про активацію різних шляхів системної запальної реакції на індивідуальному рівні.

Проведено аналіз рівнів біомаркерів запалення у хворих на ІХС в залежності від виду антитромбоцитарної терапії (табл. 1). На момент обстеження 7 хворих не отримували антитромбоцитарних препаратів через високий ризик кровотеч і наявність протипоказань, 39 хворих отримували терапію ацетилсаліциловою кислотою в дозі 75 мг на добу, 24 хворих – монотерапію клопідогрелем в дозі 75 мг на добу і 19 хворих отримували подвійну антитромбоцитарну терапію (ПАТ) ацетилсаліциловою кислотою 75 мг на добу і клопідогрелем в дозі 75 мг на добу.

У групі хворих на стенокардію, які отримували терапію ацетилсаліциловою кислотою в дозі 75 мг/д, рівень Р-селектину достовірно не відрізнявся, порівняно з хворими, які не отримували терапію антитромбоцитарними препаратами. Більш низький рівень галектину-3 виявлений у хворих, які отримували монотерапію ацетилсаліциловою кислотою, однак ця тенденція не була достовірною.

У хворих, які отримували терапію клопідогрелем у дозі 75 мг/добу, рівень Р-селектину був достовірно нижчим, ніж у хворих, які не отримували терапії антитромбоцитарними препаратами, і у хворих, які отримували монотерапію ацетилсаліциловою кислотою ( $66,4 \pm 25,6$  нг/мл,  $97,2 \pm 19,3$  нг/мл і  $81,5 \pm 29,1$  нг/мл відповідно,  $p < 0,05$ ).

Водночас, рівень галектину-3 у хворих, які отримували терапію клопідогрелем, порівняно з хворими, які не отримували терапії антитромбоцитарними препаратами або отримували монотерапію ацетилсаліциловою кислотою, достовірно не відрізнявся.

У хворих, які отримували ПАТ, рівень Р-селектину ( $57,9 \pm 28,1$  нг/мл) був достовірно нижчим, ніж у хворих, які не отримували антитромбоцитарних препаратів, або отримували монотерапію ацетилсаліциловою кислотою. Рівень галектину-3 у хворих, які отримували подвійну антитромбоцитарну терапію, достовірно не відрізнявся від рівня в групі в цілому і від рівня у хворих, які не отримували антитромбоцитарних препаратів.

На відміну від Р-селектину і галектину-3, рівень hs-СРБ не залежав від прийому антитромбоцитарних препаратів і був однаковий у всіх групах хворих.

Проведено також аналіз рівня біомаркерів запалення у хворих на ІХС залежно від проведення терапії антикоагулянтами (табл. 2).

У групі хворих на стенокардію, які отримували терапію антикоагулянтами, рівень Р-селектину був достовірно і значно нижчим, ніж у хворих, які не отримували такої терапії ( $73,1 \pm 21,1$  нг/мл і  $95,6 \pm 22,3$  нг/мл відповідно,  $p < 0,05$ ). При цьому рівні галектину-3 і hs-СРБ не відрізнялися в групах хворих, яким проводилася не проводилася терапія антикоагулянтами.

Виявлений слабкий взаємозв'язок між рівнями галектину-3 і Р-селектину в плазмі хворих зі стенокардією, при цьому взаємозв'язок обох біомаркерів зі стандартним біомаркером запалення hs-СРБ був відсутній, що створює передумови не тільки для отримання за допомогою нових біомаркерів додаткової прогностичної інформації у хворих на стенокардію, а й для використання в терапії специфічних інгібіторів різних цитокінів, хемокінів, молекул адгезії тощо, що підтверджується рандомізованими дослідженнями із застосуванням інклакумабу [6] і канакінумабу [7].

Отримані в нашому дослідженні дані про відмінності ефектів клопідогрелю і ацетилсаліцилової кислоти підтверджуються опу-

**Таблиця 1.** Рівні біомаркерів запалення в плазмі хворих на ІХС залежно від виду антитромбоцитарної терапії (M±m)

Антитромбоцитарна терапія	Біомаркери запалення		
	Р-селектин (нг/мл)	галектин-3 (нг/мл)	hs-СРБ (мг/л)
Без антитромбоцитарних препаратів	97,2±19,3	13,3±2,7	6,1±2,2
Ацетилсаліцилова кислота, 75 мг/с	81,5±29,1	10,7±4,2	6,0±2,4
Клопідогрель, 75 мг/с	66,4±25,6*	11,4±1,9	6,9±3,1
Подвійна антитромбоцитарна терапія	57,9±28,1*†	9,9±2,6	6,31±2,2

Примітки: 1. \* – достовірність відмінностей порівняно з групою хворих на ІХС, яким не проводилася терапія антитромбоцитарними препаратами,  $p < 0,05$ ; 2. † – достовірність відмінностей порівняно з групою хворих, які отримували терапію ацетилсаліциловою кислотою в дозі 75 мг/д,  $p < 0,05$ .

**Таблиця 2.** Рівні біомаркерів запалення в плазмі хворих на стенокардію залежно від проведення терапії антикоагулянтами (M±m)

Терапія антикоагулянтами	Біомаркери запалення		
	Р-селектин (нг/мл)	галектин-3 (нг/мл)	hs-СРБ (мг/л)
Антикоагулянти	73,1±21,1*	11,9±3,8	6,5±2,7
Без антикоагулянтів	95,6±22,3	12,3±2,3	6,0±2,9

Примітка. \* –  $p < 0,05$  достовірність відмінностей у порівнянні з групою хворих на стенокардію, яким не проводилася терапія антикоагулянтами.

блікованими недавно дослідженням у хворих з периферійним атеросклерозом, що показали відмінності інгібування клопидогрелем хемокінів і цитокінів, які індукують запальну відповідь при атеросклерозі [8]. Однак, слід враховувати експериментальні дані, які виявили, що розчинна форма P-селектину, яка вивчалась у нашому дослідженні, є тільки маркером тромбоцитарного компонента запальної відповіді, а активним медіатором виступає його димерна форма [9]. Галектин-3 відображає більш універсальні механізми запалення і пов'язаний як з процесами ушкодження, так і з розвитком фіброзу у хворих з хронічною серцевою недостатністю, ішемічною хворобою серця і цукровим діабетом [10], тому його активація може бути менш специфічною.

## Висновки

1. Рівні P-селектину і галектину-3 у хворих зі стабільною стенокардією взаємозв'язані, проте значно варіюють на індивідуальному рівні, при цьому обидва біомаркери запалення не пов'язані з рівнем hs-CRP, що створює передумови для персоналізації терапевтичних цілей щодо зменшення системної запальної відповіді.

2. Терапія клопидогрелем і антикоагулянтном ривароксабаном асоціюється зі зниженням рівня P-селектину, що відображає зменшення активності тромбоцитарного компонента системної запальної відповіді при атеросклерозі.

## Резюме

### Влияние антитромбоцитарных препаратов и антикоагулянтов на уровни P-селектин и галектина-3 у больных стабильной стенокардией

М. А. Хвисьюк, А. В. Бильченко

Харьковская медицинская академия последипломного образования, Харьков, Украина

Изучение влияния терапии антитромбоцитарными препаратами и антикоагулянтами у больных со стенокардией дает обоснование индивидуализации терапии, направленной на снижение остаточного сердечно-сосудистого риска, связанного с системным воспалением.

**Цель** – изучить изменения уровней новых биомаркеров воспаления P-селектин и галектина-3 у больных со стабильной стенокардией в зависимости от проводимой антитромбоцитарной и антикоагулянтной терапии.

**Материалы и методы.** Обследовано 89 больных со стенокардией. Всем больным проводили определение уровней P-селектин, галектина-3 и hs-CRP.

**Результаты.** В целом в группе обследованных больных с верифицированной стабильной стенокардией средний уровень галектина-3 в плазме составил  $12,2 \pm 5,5$  нг/мл, P-селектин –  $90,0 \pm 46,5$  нг/мл и hs-CRP –  $6,2 \pm 4,2$  мг/л. При корреляционном анализе не было выявлено взаимосвязи между плазменными уровнями P-селектин и hs-CRP у обследованных больных ( $r = -0,131$ ,  $p = 0,284$ ), что создает предпосылки для персонализации терапии, направленной на снижение остаточного сердечно-сосудистого риска, связанного с воспалением. При применении клопидогреля уровень P-селектин был достоверно ниже ( $66,4 \pm 25,6$ ;  $p < 0,05$ ), чем у больных, получавших терапию ацетилсалициловой кислотой. На уровень галектина-3 антитромбоцитарная терапия достоверно не влияла. В группе больных стенокардией, получавших терапию ривароксабаном, уровень P-селектин был достоверно и значительно ниже, по сравнению с больными, не получавшими терапию антикоагулянтами ( $73,1 \pm 21,1$  нг/мл и  $95,6 \pm 22,3$  нг/мл соответственно,  $p < 0,05$ ).

**Выводы.** Терапия клопидогрелем, в отличие от ацетилсалициловой кислоты, приводит к снижению уровня P-селектин, что отражает уменьшение активности тромбоцитарного компонента системного воспалительного ответа при атеросклерозе.

**Ключевые слова:** стенокардия, системное воспаление, биомаркеры, P-селектин, галектин-3, клопидогрель, терапия антикоагулянтами

Стаття надійшла: 17.01.2018

Стаття прийнята до друку: 28.03.2018

## Список використаної літератури

1. European Society of Cardiology: Cardiovascular Disease Statistics 2017. Atlas Writing Group / Timmis A., Townsend N., Gale C. [et al.] // Eur. Heart J. – 2017. – No. 27.
2. Ridker P. M. How Common Is Residual Inflammatory Risk? / P. M. Ridker // Circ. Res. – 2017. – Feb 17. – No. 120 (4). – P. 617–619.
3. Ridker P. M. From C-Reactive Protein to Interleukin-6 to Interleukin-1: Moving Upstream To Identify Novel Targets for Atheroprotection / P. M. Ridker // Circ. Res. – 2016. – Vol. 8, No. 118 (1). – P. 145–156.
4. Swirski F. K. Leukocyte behavior in atherosclerosis, myocardial infarction, and heart failure / F. K. Swirski, M. Nahrendorf // Science. – 2013. – Vol. 11, No. 339 (6116). – P. 161–166.
5. ESC 2013 guidelines on the management of stable coronary artery disease // European Heart Journal. – 2013. – Vol. 34. – P. 2949–3003. URL: <http://www.unimbarburg.de/fb20/allgprmed/aktuelles/leitlinie.pdf>
6. Effects of the P-selectin antagonist inclacumab on myocardial damage after percutaneous coronary intervention for non-ST-segment elevation myocardial infarction: results of the SELECT-ACS trial / J. C. Tardif, J. F. Tanguay, S. R. Wright [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2013. – Vol. 21, No. 61(20). – P. 2048–2055.
7. CANTOS Trial Group. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease / P. M. Ridker, B. M. Everett, T. Thuren [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2017. – Vol. 213, No. 77(12). – P. 1119–1131.
8. Inhibition of platelet function with clopidogrel is associated with a reduction of inflammation in patients with peripheral artery disease / A. Meyer, A. Weithaeuser, D. Steffens [et al.] // Cardiovasc. Revasc. Med. – 2016. – No. 17 (3). – P. 169–175.
9. Gross P. L. Soluble P-selectin is the smoke, not the fire / Gross P. L. // Blood. – 2017. – Vol. 13, No. 130 (2). – P. 101–102.
10. Galectin-3 Activation and Inhibition in Heart Failure and Cardiovascular Disease: An Update / N. Suthahar, W. C. Meijers, H. H. W. Sillje [et al.] // Theranostics. – 2018. – Vol. 1, No. 8 (3). – P. 593–609.

## Summary

### The effect of antiplatelet drugs and anticoagulants on P-selectin and Galectin-3 levels in patients with stable angina pectoris

M. A. Khvysyuk, A. V. Bilchenko

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine

The study of the effect of the therapy with antiplatelet drugs and anticoagulants in patients with angina pectoris may provide justification for the individualization of therapy aimed at reducing the residual cardiovascular risk associated with systemic inflammation.

**The aim of the study** was to investigate the changes in the levels of new biomarkers of inflammation of P-selectin and galectin-3 in patients with stable angina, depending on the anti-platelet and anticoagulation therapy.

**Materials and methods.** 89 patients with angina pectoris were examined. All patients were evaluated for levels of P-selectin, galectin-3 and hs-CRP.

**Results.** Overall, in the group of patients with verified stable angina pectoris, the mean plasma Galectin-3 level was  $12,2 \pm 5,5$  ng/ml, P-selectin  $90,0 \pm 46,5$  ng/ml and hs-CRP  $6,2 \pm 4,2$  mg/l. In the correlation analysis, no correlation was found between the plasma levels of P-selectin and hs-CRP in the examined patients ( $r = -0,131$ ,  $p = 0,284$ ), which creates prerequisites for the personalization of therapy aimed at reducing the "residual" cardiovascular risk associated with inflammation. When clopidogrel was administered, the level of P-selectin was significantly lower ( $66,4 \pm 25,6$ ;  $p < 0,05$ ) compared with patients receiving aspirin therapy. Anti-platelet therapy at the level of Galectin-3 did not affect reliably. In the group of patients with angina pectoris who received rivaroxaban therapy, the level of P-selectin was reliably and significantly lower compared to patients who did not receive anticoagulant therapy ( $73,1 \pm 21,1$  ng/ml and  $95,6 \pm 22,3$  ng/ml, respectively,  $p < 0,05$ ).

**Conclusions.** Clopidogrel therapy, unlike aspirin, leads to a decrease in the level of P-selectin, which reflects a decrease in the activity of the platelet component of the systemic inflammatory response in atherosclerosis.

**Key words:** angina pectoris, systemic inflammation, biomarkers, P-selectin, Galectin-3, clopidogrel, anticoagulant therapy

Received: 17.01.2018

Article accepted for publication: 28.03.2018