

<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2022-37-2-98-104>
УДК 616.126-002-022.7:577.218]-021.6

Изменение экспрессии генов в створках нативных клапанов сердца, пораженных инфекционным эндокардитом

А.В. Синицкая, М.Ю. Синицкий, М.В. Хуторная, Я.В. Казачек,
А.В. Евтушенко, А.В. Понасенко

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний,
650002, Российская Федерация, Кемерово, Сосновый б-р, 6

Аннотация

Цель исследования: оценить вклад генов *SOD1*, *CAT*, *PXDN1*, *NOS3*, *EDN1*, *VCAM*, *ICAM*, *PECAM*, *SELE* и *SELP* в патогенез инфекционного эндокардита (ИЭ) у пациентов, перенесших кардиохирургическое вмешательство.

Материал и методы. Проведено исследование 25 створок нативных клапанов сердца, пораженных ИЭ, и 13 нативных створок, полученных от пациентов с другой клапанной патологией. Уровень экспрессии генов *SOD1*, *CAT*, *PXDN1*, *NOS3*, *EDN1*, *VCAM*, *ICAM*, *PECAM*, *SELE* и *SELP* определяли методом количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР). Иммунофлуоресцентное окрашивание проводили с применением специфических первичных антител к нитротирозину.

Результаты. Створки нативных клапанов сердца, пораженных ИЭ, характеризуются сниженной экспрессией генов, вовлеченных в процессы окислительного стресса и генов, кодирующих молекулы клеточной адгезии. Иммунофлуоресцентное окрашивание показало, что в створке клапана, пораженного ИЭ, наблюдалось более низкое окрашивание нитротирозином по сравнению с контрольными образцами клапанов, что свидетельствует о менее выраженном процессе оксидативного стресса.

Ключевые слова:	патология клапанов сердца, экспрессия, инфекционный эндокардит, иммунофлуоресцентное окрашивание.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	исследование выполнено при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0419-2022-0001.
Соответствие принципам этики:	информированное согласие получено от каждого пациента. Исследование одобрено локально этическим комитетом НИИ КПССЗ (протокол № 20 от 24.11.2016 г.).
Для цитирования:	Синицкая А.В., Синицкий М.Ю., Хуторная М.В., Казачек Я.В., Евтушенко А.В., Понасенко А.В. Изменение экспрессии генов в створках нативных клапанов сердца, пораженных инфекционным эндокардитом. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2022;37(2):98–104. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2022-37-2-98-104 .

Expression of oxidative stress markers in native heart valves obtained from patients with infective endocarditis

Anna V. Sinitskaya, Maxim Yu. Sinitsky, Maria V. Khutornaya,
Yana V. Kazachek, Alexei V. Evtushenko, Anastasia V. Ponasenکو

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases,
6, Sosnovy blvd, Kemerovo, 650002, Russian Federation

Abstract

Aim. To evaluate the contribution of *SOD1*, *CAT*, *PXDN1*, *NOS3*, *EDN1*, *VCAM*, *ICAM*, *PECAM*, *SELE* and *SELP* genes to the pathogenesis of infective endocarditis in patients undergoing cardiac surgery.

Material and Methods. We studied 25 native heart valves obtained from patients with infective endocarditis and 13 native heart valves obtained from patients with other valvular pathology. The expression of *SOD1*, *CAT*, *PXDN1*, *NOS3*, *EDN1*, *VCAM*, *ICAM*, *PECAM*, *SELE* and *SELP* genes was determined by qPCR. Immunofluorescent staining was performed using specific primary antibodies to nitrotyrosine.

Results. Native heart valves obtained from infective endocarditis patients were characterized by the decreased expression of genes involved in the processes of oxidative stress and genes encoding cell adhesion molecules. Immunofluorescence staining showed that the heart valves obtained from infective endocarditis patients had lower nitrotyrosine staining compared to the control suggesting the decreased oxidative stress.

Keywords:	valvular pathology, gene expression, infective endocarditis, immunofluorescent staining.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	the Complex Program of Fundamental Research of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences within the framework of the fundamental research project of Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Grant/Award Number 0419-2022-0001.
Adherence to ethical standards:	informed consent was obtained from all patients. The study was approved by the Ethics Committee of NII KPSSZ (protocol No. 20 from 24.11.2016).
For citation:	Sinitskaya A.V., Sinitsky M.Yu., Khutornaya M.V., Kazachek Y.V., Evtushenko A.V., Ponasenکو A.V. Expression of oxidative stress markers in native heart valves obtained from patients with infective endocarditis. <i>The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2022;37(2):98–104. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2022-37-2-98-104 .

Введение

Инфекционный эндокардит (ИЭ) – заболевание, приводящее к нарушению функции клапанов сердца и занимающее одну из лидирующих позиций среди причин смертности населения. Развитие ИЭ – многофакторный процесс, компоненты которого определяют течение и исход данного заболевания. Несмотря на то, что заболеваемость ИЭ не высока, данное патологическое состояние представляет собой жизнеугрожающее заболевание с высокой степенью развития осложнений [1].

Зачастую развитие ИЭ ассоциировано с бактериальной инфекцией, которая изначально поражает эндокардиальную поверхность сердца. Течение ИЭ зависит от активности воспалительного процесса, патогена, а также от реакции организма пациента [2]. Среди патогенов, поражающих клапанные структуры сердца, в большинстве случаев превалирует золотистый стафилококк, проникающий в эндотелиальные клетки, что впоследствии может приводить к повреждению эндотелиального слоя. Повреждение эндотелия стимулирует образование фибрин-тромбоцитарных агрегатов, без воспалительного процесса и бактерий. Кроме того, эндокард активно экс-

прессирует интегрин, создавая адгезивную поверхность для циркулирующих патогенов [3]. Кроме того, стоит отметить, что эндотелиальные клетки наиболее чувствительны к различным повреждающим факторам, таким как свободные радикалы, воспалительные белки и др.

Молекулярно-генетические исследования развития ИЭ в основном сосредоточены на изучении однонуклеотидных замен. Так, ранее нашей научной группой показано, что полиморфные варианты rs1143634 гена *IL1b*, rs3212227 гена *IL12* и rs1130864 гена *CRP* обладают протективным эффектом в отношении развития ИЭ [4]. Также отмечено, что экспрессия провоспалительных цитокинов более выражена в створках нативных клапанов сердца, пораженных ИЭ, по сравнению с другой клапанной патологией. Ю.С. Бахарева и соавт. в своем исследовании показали значимую роль генов, кодирующих матриксную металлопротеиназу 9 и эндотелиальную синтазу азота, в отношении развития эндокардитов как инфекционной, так и неинфекционной природы [5]. Отмечается, что молекулы межклеточной адгезии, представляющие собой мембранные рецепторы, играют важную роль как в нормальных, так и в патофизиологических процессах, связанных с транспортом и взаимодействием между клетками. Кроме

того, С. Golias и соавт. в своем обзоре, опубликованном в 2011 г., предложили идею о том, что молекулы клеточной адгезии играют важную роль в патофизиологии ИЭ [6]. В работах отечественных исследователей установлена роль эндотелиальной дисфункции при инфекционном эндокардите [7]. В одной из наших работ, также показано, что минорный аллель Т полиморфного варианта rs5370 *EDN1* ассоциирован с увеличением риска развития ИЭ [8]. Таким образом, на основании литературных данных нами была сформулирована цель исследования, которая заключалась в оценке вклада генов *SOD1*, *CAT*, *PXDN1*, *NOS3*, *EDN1*, *VCAM*, *ICAM*, *PECAM*, *SELE* и *SELP* в патогенез инфекционного эндокардита у пациентов, перенесших кардиохирургическое вмешательство.

Материал и методы

В исследование включены 25 пациентов (средний возраст – 55 лет) с уточненным диагнозом «инфекционный эндокардит» и 12 пациентов (средний возраст – 62 года) с другой клапанной патологией, проходивших лечение на базе НИИ КПССЗ (Кемерово). Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ КПССЗ. Все участники подписывали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Сбор материала и выделение РНК

Для избегания деконтаминации все рабочие поверхности были обработаны раствором для деконтаминации RNaseZap™ RNase Decontamination Solution (Invitrogen, США).

Полученный участок створки клапана лизировали в 900 мкл реагента TRIzol (Invitrogen, США) с последующей гомогенизацией ткани. Выделение РНК осуществляли коммерческим набором компании Qiagen в соответствии с предоставляемым протоколом производителя (Qiagen, кат. номер: 74104, Германия). При помощи спектрофотометра Qubit 4 Fluorometer (Invitrogen, США) определяли целостность выделенной РНК, а также ее количество и качество. Выделенные образцы РНК хранили при температуре –80 °С.

Проведение кПЦР

Синтез комплементарной ДНК (кДНК) проводили при помощи реакции обратной транскрипции коммерческим набором в соответствии с протоколом производителя (Applied Biosystems, кат. номер: 4374967, США). На спектрофотометре NanoDrop™ 2000 (ThermoScientific, США) проводили оценку качества и количество синтезированной кДНК. До начала следующего этапа эксперимента синтезированную кДНК хранили при температуре –20 °С.

Экспрессию генов *PXDN1*, *NOS3*, *EDN1*, *VCAM*, *ICAM*, *PECAM*, *SELE*, *SELP* оценивали с помощью количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР) с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени с флуоресцентным красителем SYBR Green (таблица), а генов *SOD1*, *CAT* – с помощью кПЦР с праймерами TaqMan™ Gene Expression Assays (Applied Biosystems, США) на амплификаторе ViiA 7 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, США).

Таблица. Характеристика праймеров, использованных в эксперименте
Table. The characteristics of primers used in the experiment

Ген Gene	Последовательность/Референсный номер Sequence/Reference number	Белок Protein
ACTB	Прямой/Forward: 5'-CATCGAGCACGGCATCGTCA-3' Обратный/Reverse: 5'-TAGCACAGCCTGGACAGCAAC-3'	Актин/Actin
GAPDH	Прямой/Forward: 5'-AGCCACATCGCTCAGACAC-3' Обратный/Reverse: 5'-GCCAATACGACCAATCC-3'	Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа/ Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase
B2M	Прямой/Forward: 5'-TCCATCCGACATTGAAGTTG-3' Обратный/Reverse: 5'-CGGCAGGCATACTCATCTT-3'	Микроглобулин бета-2/Beta-2-microglobulin
VCAM1	Прямой/Forward: 5'-CGTCTTGGTCAGCCCTTCCT-3' Обратный/Reverse: 5'-ACATTCATATACTCCCGCATCCTTC-3'	Молекула адгезии сосудистого эндотелия 1 Vascular cell adhesion protein 1
ICAM1	Прямой/Forward: 5'-TTGGGCATAGAGACCCCGTT-3' Обратный/Reverse: 5'-GCACATTGCTCAGTTCATACACC-3'	Молекула межклеточной адгезии 1-го типа Intercellular adhesion molecule 1
PECAM1	Прямой/Forward: 5'-AAGGAACAGGAGGGAGAGTATTA-3' Обратный/Reverse: 5'-GTATTTTGTCTTCTGGGGACACT-3'	Молекула адгезии тромбоцитов к эндотелиальным клеткам/Platelet endothelial cell adhesion molecule
SELE	Прямой/Forward: 5'-ACCCTGGCTTCAGTGGACTC-3' Обратный/Reverse: 5'-TGCTTGGCAGGTAACCCCTAT-3'	Е-селектин/E-selectin
SELP	Прямой/Forward: 5'-ATGGGTGGGAACCAAAAGG-3' Обратный/Reverse: 5'-GGCTGACGGACTCTTGATGAT-3'	P-селектин/P-selectin
EDN1	Прямой/Forward: 5'-TGCCACCTGGACATCATTTGG-3' Обратный/Reverse: 5'-GTCTGTTGCCTTTGTGGGAAG-3'	Эндотелин 1/Endothelin-1
NOS3	Прямой/Forward: 5'-GTGATGGCGAAGCGAGTGAAG-3' Обратный/Reverse: 5'-CCGAGCCCGAACACACAGAAC-3'	Эндотелиальная синтаза азота Nitric oxide synthase, endothelial
PXDN	Прямой/Forward: 5'-AGCCAGCCATCACTGGAAC-3' Обратный/Reverse: 5'-TTCCGGGCCACACACTCATA-3'	Пероксидазин/Peroxidasin homolog
CAT	Hs00156308_m1	Каталаза/Catalase
SOD1	Hs00533490_m1	Супероксиддисмутаза 1/Superoxide dismutase

На каждый образец готовили 10 мкл реакционной смеси, содержащей 5 мкл мастер-микса PowerUp™ SYBR® Green Master Mix (Applied Biosystems, США), смесь прямого и обратного праймеров в конечной концентрации

500 нМ и 10 нг кДНК. ПЦР проводили в 96-луночной оптической планке, содержащей помимо анализируемых образцов пять стандартов с двукратным разведением и отрицательный контроль (реакционная смесь без кДНК).

Каждый исследуемый образец, стандарт и отрицательный контроль анализировали в трех технических повторах. Амплификацию осуществляли по следующей схеме: 2 мин при 50 °C, 2 мин при 95 °C, 15 с при 95 °C и 1 мин при 60 °C (40 циклов). Специфичность и эффективность реакции проверяли путем анализа кривых плавления и графиков амплификации в программе QuantStudio™ Real-Time PCR Software v.1.3 (Applied Biosystems, США). Результаты кПЦР нормировали с помощью трех референсных генов *ACTB*, *GAPDH*, *B2M* (см. таблицу) в соответствии с имеющимися рекомендациями. Экспрессию изучаемых генов рассчитывали по методу $2^{-\Delta\Delta Ct}$ и выражали в виде кратного изменения относительно контрольных образцов.

Иммунофлуоресцентное окрашивание

Из замороженных образцов на криотоме Microm HM 525 (Thermo Scientific, США) изготавливали срезы толщиной 8 мкм, которые окрашивали с применением специфических первичных антител к нитротирозину (кат. номер: 39B6). На образцы с антителами к нитротирозину наносили смесь вторичных антител к IgG осла, конъюгированные с AlexaFluor555 (A-31570, Invitrogen, США). Все срезы докрашивали ядерным красителем DAPI (Sigmaaldrich, США). Автофлуоресценцию удаляли с помощью реагента Autofluorescence Eliminator Reagent (Millipore, США) согласно инструкции производителя и заключали в ProLong (LifeTechnologies, США) под покровное стекло. Исследование препаратов осуществляли на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе LSM 700 (Carl Zeiss, Германия).

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программы GraphPad Prism 8 (Graph Pad Software,). Нормальность распределения оценивали при помощи теста Колмогорова – Смирнова, Шапиро – Уилка. В случае если распределение отклонялось от нормального, сравнение двух групп проводили при помощи критерия Манна – Уитни. Сравнение более двух групп осуществляли с помощью теста Краскела – Уоллиса. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В проведенном исследовании выделены образцы РНК (диапазон концентраций – от 168,7 до 247,1 нг/мкл) с высоким уровнем чистоты ($A_{260}/_{230} > 1,90$; $A_{260}/_{280} > 2,00$; RIQ индекс $> 9,5$). На основе полученных образцов РНК синтезировано более 1500 нг/мкл кДНК ($A_{260}/_{230} > 1,90$ и $A_{260}/_{280} > 1,80$).

Сравнительный анализ экспрессии генов *PXDN1*, *SOD1* и *CAT*, а также *NOS3* и *EDN* в створках нативных клапанов пациентов с ИЭ и контролем показал, что уровень мРНК в створках, пораженных ИЭ, был статистически значимо ниже по сравнению с контролем (рис. 1).

Стоит отметить, что экспрессия генов *VCAM* и *SELP* также статистически значимо снижена в створках, пораженных ИЭ, по сравнению с контрольными образцами (рис. 2). Достоверных различий по другим генам получено не было.

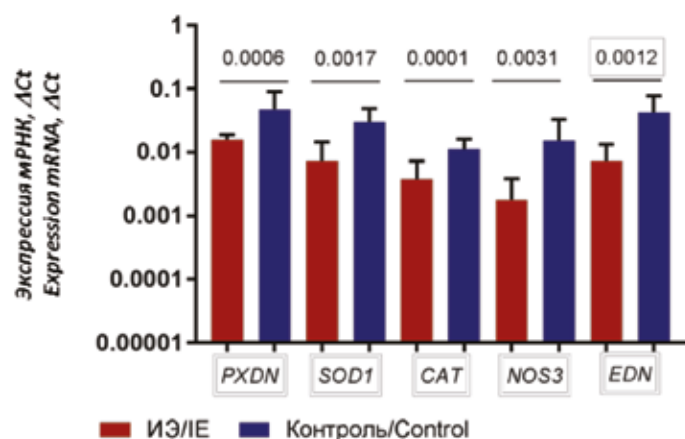


Рис. 1. Уровень экспрессии *PXDN1*, *SOD1*, *CAT*, *NOS3*, *EDN1*
Fig. 1. The expression levels of *PXDN1*, *SOD1*, *CAT*, *NOS3*, *EDN1*

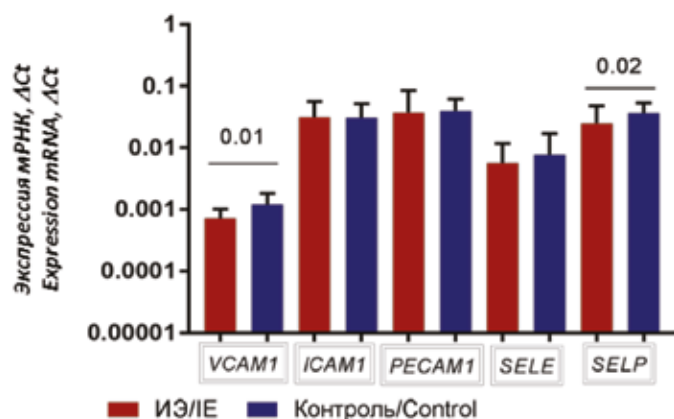


Рис. 2. Экспрессия генов *VCAM*, *ICAM*, *PECAM*, *SELE*, *SELP*
Fig. 2. The expression levels of *VCAM*, *ICAM*, *PECAM*, *SELE*, *SELP*

При помощи иммунофлуоресцентного окрашивания антителами к нитротирозину показано, что створки клапанов отличались по уровню экспрессии данного белка. Так,

в створке клапана, пораженного ИЭ, наблюдалось более слабое окрашивание нитротирозином (1) по сравнению с контрольными образцами клапанов (2–4), рисунок 3.

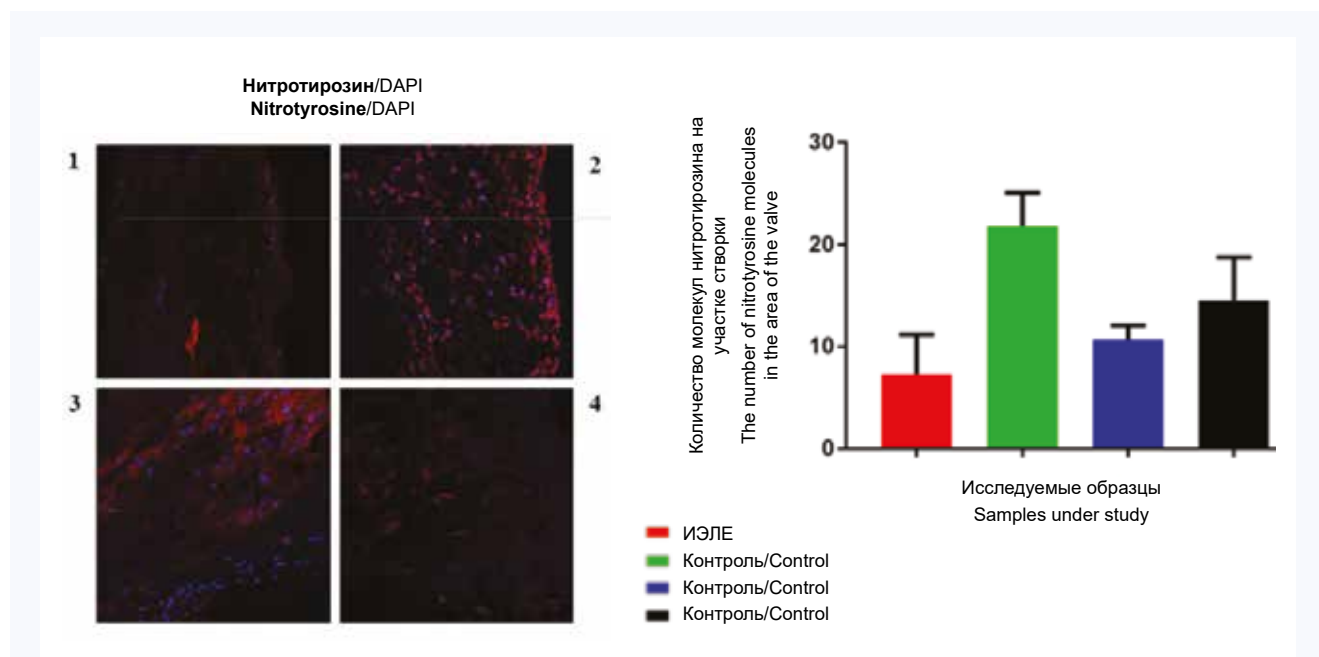


Рис. 3. Изображение конфокальной микроскопии нативных створок клапанов сердца, а – окраска на нитротирозин (красный) и DAPI (синий), цифрами обозначены образцы клапанов: 1 – клапан, пораженный ИЭ; 2, 3, 4 – клапаны без ИЭ; б – количественный анализ изображения (данные представлены в виде медианы). В качестве контроля представлены клапаны без ИЭ. Для сравнения данных использовался тест Краскела – Уоллиса с поправкой на множественные сравнения

Fig. 3. Confocal microscopy imaging of native heart valves, а – 3-nitrotyrosine (red) and DAPI (blue) staining with the heart valve specimens marked by numerals: 1 – heart valve from infective endocarditis patient; 2, 3, 4 – control; б – quantitative analysis of images presented as median. The heart valves obtained from patients without infective endocarditis were used as control. Kruskal – Wallis test with correction on multiple was applied for data comparison

Несмотря на значительные успехи в области кардиологии и кардиохирургии, ежегодно количество дисфункций как нативных, так и биопротезов клапанов продолжает неуклонно расти. Стоит отметить, что на сегодняшний день значительное внимание уделяется изучению нарушений функций биопротезов клапанов сердца [9], в то же время механизмы дисфункции нативных клапанов не до конца изучены. Учитывая тяжесть заболевания и рост заболеваемости ИЭ особое значение приобретает изучение патофизиологических путей развития данного состояния. Одним из важнейших звеньев патогенеза ИЭ является повреждение эндотелия клапана сердца или пристеночного эндокарда, возникающее вследствие дегенеративных и воспалительных изменений. Повреждение эндотелиального слоя провоцирует каскад патологических процессов с участием про- и противовоспалительных факторов. Кроме того, прогрессирует тканевая гипоксия, а также происходит нарушение в системе гемостаза [10]. Также отмечается роль окислительного стресса и хронического воспаления на начальных этапах развития клапанной патологии [11].

Полученные нами данные дополняют ранее опубликованную работу, посвященную роли сывороточных уровней молекул клеточной адгезии и эндотелина, а также полиморфных вариантов генов, кодирующих данные молекулы, в патогенез ИЭ [8]. В нашем исследовании мы установили, что уровень генной экспрессии молекул кле-

точной адгезии, за исключением *VCAM1*, был одинаков в нативных створках независимо от патологии клапана сердца. Ранее показано, что при воздействии на эндотелий клапана сердца наблюдается усиление экспрессии молекул адгезии сосудистых клеток (*VCAM1*) и молекул внутриклеточной адгезии (*ICAM1*) [12]. Известным фактом является то, что сосудистый эндотелий подвержен действию различных факторов (свободные радикалы, воспалительные белки и др.), однако система синтеза оксида азота является важным звеном поддержания сосудистого тонуса. Так, в одной из отечественных работ отмечается, что наличие генотипа 4b/4b гена *NOS3* уменьшает вероятность возникновения эндокардита как инфекционной, так и неинфекционной природы [5]. В нашем исследовании отмечается статистически значимый сниженный уровень генной экспрессии в нативных клапанах сердца, пораженных ИЭ, по сравнению с контрольными образцами клапанов.

Основная масса научных исследований молекулярных механизмов развития дисфункции клапанов посвящена изучению процессов воспаления. Группа ученых, используя метод иммуногистохимического окрашивания, показала, что во время активного воспалительного ответа в створках клапана содержится значительное количество IL-8 и TNF α [13]. Неоднократно показано, что ИЭ сопровождается местным и системным воспалением с увеличением концентраций следующих цитокинов: IL-6,

IL-2R и IL-1 β [14, 15]. Кроме того, установлено, что цитокины наряду с продуктами бактериального происхождения способны усиливать продукцию активных форм кислорода полиморфно-ядерными лейкоцитами и моноцитами путем активации НАДФН-оксидазы [16]. В одной из последних работ предложена гипотеза о том, что дисфункция клапанов сердца может быть связана с дефектом митохондрий, сопровождающимся увеличением супероксидных радикалов, являющихся предшественниками перекиси водорода.

В исследованиях отмечается, что высвобождение перекиси водорода в образцах миокарда пациентов с ИЭ в 2,14 раза выше по сравнению с образцами миокарда,

полученными от пациентов с другой клапанной патологией [17].

В целом, в проведенном исследовании впервые показан профиль генной экспрессии маркеров окислительного стресса, а также молекул межклеточной адгезии, что может свидетельствовать о нарушении эндотелиального слоя клапанных структур.

Заключение

Створки нативных клапанов сердца, пораженных инфекционным эндокардитом, характеризуются сниженной экспрессией генов, вовлеченных в процессы окислительного стресса и генов, кодирующих молекулы клеточной адгезии.

Литература

1. Del Giudice C., Vaia E., Liccardo D., Marzano F., Valletta A., Spagnuolo G. et al. Infective endocarditis: A focus on oral microbiota. *Microorganisms*. 2021;9(6):1218. DOI: 10.3390/microorganisms9061218.
2. Faraji R., Behjati-Ardakani M., Faraji N., Moshtaghion S.M., Kalantar S.M., Pedarzadeh A. et al. Molecular diagnosis of bacterial definite infective endocarditis by real-time polymerase chain reaction. *Cardiol. Res.* 2018;9(2):99–106. DOI: 10.14740/cr687w.
3. Que Y.A., Haeffliger J.A., Piroth L., François P., Widmer E., Entenza J.M. et al. Fibrinogen and fibronectin binding cooperate for valve infection and invasion in staphylococcus aureus experimental endocarditis. *J. Exp. Med.* 2005;201(10):1627–1635. DOI: 10.1084/jem.20050125.
4. Ponasenko A.V., Kutikhin A.G., Khutornaya M.V., Rutkovskaya N.V., Kondyukova N.V., Odarenko Y.N. et al. Inherited variation in cytokine, acute phase response, and calcium metabolism genes affects susceptibility to infective endocarditis. *Mediators Inflamm.* 2017;2017:7962546. DOI: 10.1155/2017/7962546.
5. Бахарева Ю.С., Максимов В.Н., Акиншина Е.И., Чапаева Н.Н. Ассоциация полиморфизма некоторых генов-кандидатов с развитием эндокардитов неинфекционной и инфекционной этиологии. *Российский кардиологический журнал*. 2018;(10):83–87. DOI: 10.15829/1560-4071-2018-10-83-87.
6. Golias C., Batistatou A., Bablekos G., Charalabopoulos A., Peschos D., Mitsopoulos P. et al. Physiology and pathophysiology of selectins, integrins, and IgSF cell adhesion molecules focusing on inflammation. A paradigm model on infectious endocarditis. *Cell Commun. Adhes.* 2011;18(3):19–32. DOI: 10.3109/15419061.2011.606381.
7. Дремина Н.Н., Шурьгин М.Г., Шурьгина И.А. Эндотелин в норме и при патологии. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2016;10(2):210–214.
8. Понасенко А.В., Цепкина А.В., Кутихин А.Г., Кудрявцева Ю.А. Полиморфизм генов белков, связанных с функцией эндотелия, у пациентов с инфекционным эндокардитом. *Российский кардиологический журнал*. 2018;(10):88–97. DOI: 10.15829/1560-4071-2018-10-88-97.
9. Глушкова Т.В., Костюнин А.Е. Структура кальцификатов в биопроте-зах клапанов сердца, консервированных диглицидиловым эфиром этиленгликоля. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2021;10(2):16–24. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-2-16-24.
10. Nunes M.C.P., Araújo I.R., Carvalho A.T., Andrade L.A., Resende M.H.L., Silva J.L.P. et al. Do cytokines play a role in predicting some features and outcome in infective endocarditis? *Adv. Infect. Dis.* 2013;3(2):115–119. DOI: 10.4236/aid.2013.32018.
11. Branchetti E., Sainger R., Poggio P., Grau J.B., Patterson-Fortin J., Bavaria J.E. et al. Antioxidant enzymes reduce DNA damage and early activation of valvular interstitial cells in aortic valve sclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2013;33:e66–e74. DOI: 10.1161/ATVBAHA.112.300177.
12. Roberts S., Kosanke S., Dunn S.T., Jankelow D., Duran C.M.G., Cunningham M.W. Pathogenic mechanisms in rheumatic carditis: Focus on valvular endothelium. *J. Infect. Dis.* 2001;183(3):507–511. DOI: 10.1086/318076.
13. Ekdahl C., Broqvist M., Franzén S., Ljunghusen O., Maller R., Sander B. IL-8 and tumor necrosis factor alpha in heart valves from patients with infective endocarditis. *Scand. J. Infect. Dis.* 2008;34(10):759–762. DOI: 10.1080/00365540210147912.
14. Watkin R.W., Harper L.V., Vernalis A.B., Lang S., Lambert P.A., Rana-singhe A.M. et al. Pro-inflammatory cytokines IL6, TNF-alpha, IL1beta, procalcitonin, lipopolysaccharide binding protein and C-reactive protein in infective endocarditis. *J. Infect.* 2007;55(3):220–225. DOI: 10.1016/j.jinf.2007.05.174.
15. Alter P., Hoeschen J., Ritter M., Maisch B. Usefulness of cytokines interleukin-6 and interleukin-2R concentrations in diagnosing active infective endocarditis involving native valves. *Am. J. Cardiol.* 2002;89(12):1400–1404. DOI: 10.1016/s0002-9149(02)02353-6.
16. Ostrowski S., Kasielski M., Kordiak J., Nowak D. Elevated resting and agonist-induced whole blood chemiluminescence in patients with active infective endocarditis. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2009;8(1):12–16. DOI: 10.1510/icvts.2008.183285.
17. Ostrowski S., Kasielski M., Kordiak J., Zwolinska A., Włodarczyk A., Nowak D. Myocardial oxidative stress in patients with active infective endocarditis. *Int. J. Cardiol.* 2013;167(1):270–276. DOI: 10.1016/j.ij-card.2011.12.102.
1. Del Giudice C., Vaia E., Liccardo D., Marzano F., Valletta A., Spagnuolo G. et al. Infective endocarditis: A focus on oral microbiota. *Microorganisms*. 2021;9(6):1218. DOI: 10.3390/microorganisms9061218.
2. Faraji R., Behjati-Ardakani M., Faraji N., Moshtaghion S.M., Kalantar S.M., Pedarzadeh A. et al. Molecular diagnosis of bacterial definite infective endocarditis by real-time polymerase chain reaction. *Cardiol. Res.* 2018;9(2):99–106. DOI: 10.14740/cr687w.
3. Que Y.A., Haeffliger J.A., Piroth L., François P., Widmer E., Entenza J.M. et al. Fibrinogen and fibronectin binding cooperate for valve infection and invasion in staphylococcus aureus experimental endocarditis. *J. Exp. Med.* 2005;201(10):1627–1635. DOI: 10.1084/jem.20050125.
4. Ponasenko A.V., Kutikhin A.G., Khutornaya M.V., Rutkovskaya N.V., Kondyukova N.V., Odarenko Y.N. et al. Inherited variation in cytokine, acute phase response, and calcium metabolism genes affects susceptibility to infective endocarditis. *Mediators Inflamm.* 2017;2017:7962546. DOI: 10.1155/2017/7962546.
5. Bakhareva Yu.S., Maksimov V.N., Akinshina E.I., Chapaeva N.N. Association of polymorphism of some candidate genes with the development of non-infectious and infectious endocarditis. *Russian Journal of Cardiology*. 2018;(10):83–87. (In Russ.). DOI: 10.15829/1560-4071-2018-10-83-87.
6. Golias C., Batistatou A., Bablekos G., Charalabopoulos A., Peschos D., Mitsopoulos P. et al. Physiology and pathophysiology of selectins, integrins, and IgSF cell adhesion molecules focusing on inflammation. A paradigm model on infectious endocarditis. *Cell Commun. Adhes.* 2011;18(3):19–32. DOI: 10.3109/15419061.2011.606381.
7. Dremina N.N., Shurygin M.G., Shurygina I.A. Endothelin is normal and with pathology. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2016;10(2):210–214. (In Russ.).
8. Ponasenko A.V., Tsepokina A.V., Kutixin A.G., Kudryavtseva Yu.A. Polymorphism of protein genes associated with endothelial function in patients with infective endocarditis. *Russian Journal of Cardiology*. 2018;(10):88–97. (In Russ.). DOI: 10.15829/1560-4071-2018-10-88-97.
9. Glushkova T.V., Kostyunin A.E. Calcification of bioprosthetic heart valves treated with ethylene glycol diglycidyl ether. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2021;10(2):16–24. (In Russ.). DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-2-16-24.

10. Nunes M.C.P., Araújo I.R., Carvalho A.T., Andrade L.A., Resende M.H.L., Silva J.L.P. et al. Do cytokines play a role in predicting some features and outcome in infective endocarditis? *Adv. Infect. Dis.* 2013;3(2):115–119. DOI: 10.4236/aid.2013.32018.
11. Branchetti E., Sainger R., Poggio P., Grau J.B., Patterson-Fortin J., Bavaria J.E. et al. Antioxidant enzymes reduce DNA damage and early activation of valvular interstitial cells in aortic valve sclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2013;33:e66–e74. DOI: 10.1161/ATVBAHA.112.300177.
12. Roberts S., Kosanke S., Dunn S.T., Jankelow D., Duran C.M.G., Cunningham M.W. Pathogenic mechanisms in rheumatic carditis: Focus on valvular endothelium. *J. Infect. Dis.* 2001;183(3):507–511. DOI: 10.1086/318076.
13. Ekdahl C., Broqvist M., Franzén S., Ljunghusen O., Maller R., Sander B. IL-8 and tumor necrosis factor alpha in heart valves from patients with infective endocarditis. *Scand. J. Infect. Dis.* 2008;34(10):759–762. DOI: 10.1080/00365540210147912.
14. Watkin R.W., Harper L.V., Vernallis A.B., Lang S., Lambert P.A., Rana-singhe A.M. et al. Pro-inflammatory cytokines IL6, TNF-alpha, IL1beta, procalcitonin, lipopolysaccharide binding protein and C-reactive protein in infective endocarditis. *J. Infect.* 2007;55(3):220–225. DOI: 10.1016/j.jinf.2007.05.174.
15. Alter P., Hoeschen J., Ritter M., Maisch B. Usefulness of cytokines interleukin-6 and interleukin-2R concentrations in diagnosing active infective endocarditis involving native valves. *Am. J. Cardiol.* 2002;89(12):1400–1404. DOI: 10.1016/s0002-9149(02)02353-6.
16. Ostrowski S., Kasielski M., Kordiak J., Nowak D. Elevated resting and agonist-induced whole blood chemiluminescence in patients with active infective endocarditis. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2009;8(1):12–16. DOI: 10.1510/icvts.2008.183285.
17. Ostrowski S., Kasielski M., Kordiak J., Zwolinska A., Wlodarczyk A., Nowak D. Myocardial oxidative stress in patients with active infective endocarditis. *Int. J. Cardiol.* 2013;167(1):270–276. DOI: 10.1016/j.ij-card.2011.12.102.

Информация о вкладе авторов

Синицкая А.В. — определение уровня экспрессии генов, интерпретация данных, написание первого варианта статьи.

Синицкий М.Ю. — определение уровня экспрессии нитротирозина, интерпретация данных.

Хуторная М.В. — определение уровня экспрессии генов, интерпретация данных.

Казачек Я.В. — описание группы исследования, набор группы исследования.

Евтушенко А.В. — проведение хирургического вмешательства, набор группы исследования.

Понасенко А.В. — концепция исследования, окончательное утверждение рукописи.

Information on author contributions

Sinitzskaya A.V. — gene expression level assessment, data interpretation, and writing the first draft of the article.

Sinitzkiy M.V. — nitrotyrosine expression level assessment and data interpretation.

Khutornaya M.V. — gene expression level assessment and data interpretation.

Kazachek Ya.V. — description and enrolment of study group.

Evtushenko A.V. — surgical intervention and enrolment of study group.

Ponassenko A.V. — research concept and final approval of the manuscript.

Сведения об авторах

Синицкая Анна Викторовна, научный сотрудник, лаборатория геномной медицины, отдел экспериментальной медицины, Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний. ORCID 0000-0002-4467-8732.

E-mail: cepoav1991@gmail.com.

Синицкий Максим Юрьевич, канд. биол. наук, старший научный сотрудник, лаборатория геномной медицины, отдел экспериментальной медицины, Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний. ORCID 0000-0002-4824-2418.

E-mail: sinitzkiy.maxim@gmail.com.

Хуторная Мария Владимировна, младший научный сотрудник, лаборатория геномной медицины, отдел экспериментальной медицины, Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний. ORCID 0000-0002-9714-4080.

E-mail: masha_hut@mail.ru.

Казачек Яна Владимировна, канд. мед. наук, главный фармаколог, Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний. ORCID 0000-0002-1491-0799.

E-mail: kazachek@kemcardio.ru.

Евтушенко Алексей Валерьевич, д-р мед. наук, заведующий лабораторией пороков сердца, отдел хирургии сердца и сосудов, Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний. ORCID 0000-0001-8475-4667.

E-mail: ave@kemcardio.ru.

Понасенко Анастасия Валериевна, канд. мед. наук, заведующий лабораторией геномной медицины, отдел экспериментальной медицины, Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний. ORCID 0000-0002-3002-2863.

E-mail: ponaav@kemcardio.ru.

Information about the authors

Anna V. Sinitzskaya, Research Scientist, Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases. ORCID 0000-0002-4467-8732.

E-mail: cepoav1991@gmail.com.

Maxim Yu. Sinitzkiy, Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Scientist, Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases. ORCID 0000-0002-4824-2418.

E-mail: sinitzkiy.maxim@gmail.com.

Maria V. Khutornaya, Junior Research Scientist, Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases. ORCID 0000-0002-9714-4080.

E-mail: masha_hut@mail.ru.

Yana V. Kazachek, Cand. Sci. (Med.), Chief Pharmacologist, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases. ORCID 0000-0002-1491-0799.

E-mail: kazachek@kemcardio.ru.

Alexei V. Evtushenko, Dr. Sci. (Med.), Head of Laboratory for Valvular Heart Disease, Department of Cardiac and Vascular Surgery, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases. ORCID 0000-0001-8475-4667.

E-mail: ave@kemcardio.ru.

Anastasia V. Ponassenko, Cand. Sci. (Med.), Head of Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases. ORCID 0000-0002-3002-2863.

E-mail: ponaav@kemcardio.ru.

 **Anna V. Sinitzskaya**, e-mail: cepoav1991@gmail.com.

 **Синицкая Анна Викторовна**, e-mail: cepoav1991@gmail.com.

Received January 27, 2022

Поступила 27.01.2022