

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

©Коллектив авторов

ОЦЕНКА УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ В СТОРКАХ НАТИВНЫХ КЛАПАНОВ СЕРДЦА ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ ЭНДОКАРДИТЕ

М.Ю. Синицкий, А.В. Цепкина, М.А. Асанов, Я.В. Казачек, А.В. Евтушенко, А.В. Понасенко*

¹Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, 650002, Кемерово, Сосновый бульвар, 6; *эл. почта: сероav1991@gmail.com

Исследовали особенности экспрессии генов *IL1B*, *IL6*, *IL8*, *IL10*, *IL12A*, *IL12B*, *IL18*, *IL23*, *IL33*, *CCL2* и *IL1RL1* в образцах биоптатов нативных створок митрального, аортального и трикуспидального клапанов сердца, полученных от 25 пациентов в ходе хирургической коррекции приобретённого порока, обусловленного инфекционным эндокардитом. Контролем служили биоптаты нативных створок митрального и аортального клапанов от 12 пациентов, прошедших хирургическую коррекцию приобретённого порока сердца неинфекционной этиологии. По характеру изменения локальной экспрессии выделено три группы генов, отличной активности у пациентов с инфекционным эндокардитом в сравнении с контролем: гены с повышенной экспрессией (*IL1B*, *IL6* и *IL8*), гены с пониженной экспрессией (*IL33* и *IL1RL1*), а также гены, экспрессия которых значительно не изменялась (*IL12A*, *IL18*, *IL23* и *CCL2*). Наиболее выраженное увеличение экспрессии выявлено для гена *IL8* (в 9,83 раза относительно контроля), а снижение — для гена *IL1RL1* (в 4,17 раза). Кроме того, экспрессия генов *IL10* и *IL12B* в изученных образцах не обнаружена. Полученные результаты свидетельствуют о том, что при инфекционном эндокардите в нативных створках клапанов сердца наблюдается локальный иммунный ответ, выражающийся в неспецифическом повышении экспрессии генов провоспалительных цитокинов. Снижение экспрессии протективного *IL1RL1* и его лиганда *IL33* при инфекционном эндокардите может свидетельствовать об их значимой роли в формировании индивидуальной чувствительности к развитию данной патологии. Можно предположить, что индивидуумы со сниженной локальной экспрессией данных генов обладают повышенным риском заселения клапанов сердца патогенными микроорганизмами и, как следствие, развитием воспалительного процесса.

Ключевые слова: инфекционный эндокардит; цитокины; воспаление; генная экспрессия

DOI: 10.18097/PBMC20206605406

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционный эндокардит (ИЭ) — это воспалительное заболевание, связанное с поражением клапанов сердца и других частей эндокарда, вызываемое главным образом различными микроорганизмами [1, 2], а также в ряде случаев грибами в ассоциации с бактериями [3]. Ежегодно в мире данная патология отмечается у 1-10 человек на каждые 100 тысяч населения, а госпитальная летальность может достигать 40%. Хирургическое вмешательство требуется примерно половине пациентов с ИЭ и ассоциировано с 15-25% риском летального исхода, а также 40% риском смерти в течение одного года после операции [4]. Всё это обуславливает актуальность поиска маркеров повышенной индивидуальной чувствительности к развитию ИЭ, а также изучения вклада молекулярно-генетических факторов в его патогенез.

Патофизиология ИЭ представляет собой мультифакторный процесс, в который включено множество компонентов. Патогенный микроорганизм, попадая в организм хозяина, перемещается вместе с кровотоком к структурам эндокарда, где и прикрепляется к эндотелию. Запускаемый в ответ на это каскад иммунных реакций является решающим этапом, влияющим на прогрессирование ИЭ. Эффективность

функционирования белков, вовлеченных в первичный иммунный ответ, воспалительный сигналинг и рестрикцию иммунного ответа, ассоциирована с рисками развития патологии, тяжестью протекания заболевания, а также с его исходом [5]. Активность молекул, участвующих в иммунном ответе, и сам иммунный ответ генетически детерминированы. Так, структурные изменения генов, кодирующих молекулы иммунного ответа, могут приводить к изменению функциональной активности синтезируемого белкового продукта, а изменения экспрессии соответствующих генов — к изменению его количества и, соответственно, эффективности и выраженности иммунного ответа [6]. Всё это свидетельствует о том, что понимание молекулярно-генетических основ иммунного ответа на патогенную бактерию, приводящую к развитию ИЭ, является чрезвычайно важным для современной фундаментальной и практической медицины, так как может послужить основой для поиска новых маркеров повышенного риска развития данной патологии, а также для разработки таргетной терапии.

Таким образом, целью данного исследования было изучение особенностей локальной экспрессии генов цитокинов *IL1B*, *IL6*, *IL8*, *IL10*, *IL12A*, *IL12B*, *IL18*, *IL23*, *IL33*, *CCL2* и *IL1RL1* в биологических образцах створок клапанов сердца, полученных от пациентов с ИЭ.

МЕТОДИКА

Материалом исследования послужил биоптат нативных створок митрального, аортального и трикуспидального клапанов сердца, полученный в ходе кардиохирургического вмешательства от 25 пациентов (средний возраст составил 55 лет) с подтверждённым диагнозом “инфекционный эндокардит”, госпитализированных в Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (НИИ КПССЗ, Кемерово). В качестве контроля был использован биоптат нативных створок митрального и аортального клапанов 12 пациентов (средний возраст — 62 года) без ИЭ. Сбор биологического материала осуществлялся с 2018 по 2019 гг.

Сразу после резекции участок створки клапана площадью не более 1 см² помещали в пробирку, содержащую 900 мкл лизирующего реагента TRIzol (“Invitrogen”, США), и немедленно транспортировали в лабораторию для выделения РНК. Перед началом эксперимента все рабочие поверхности и лабораторный инвентарь обрабатывали раствором для деконтаминации RNaseZap™ RNase Decontamination Solution (“Invitrogen”). Образец гомогенизировали в 900 мкл лизирующего реагента TRIzol, выделение РНК проводили с помощью коммерческого набора RNeasy® Plus Universal Mini Kit (“Qiagen”, Германия) в соответствии со стандартным протоколом, рекомендуемым производителем. Количество и качество выделенной РНК оценивали с помощью спектрофотометра NanoDrop™ 2000 (“ThermoScientific”, США). Целостность РНК

определяли с помощью спектрофотометра Qubit 4 Fluorometer (“Invitrogen”), оценивая RIQ (RNA Integrity and Quality) индекс. Выделенные образцы РНК хранили при температуре -80°C.

Комплементарную ДНК (кДНК) синтезировали с помощью реакции обратной транскрипции и коммерческого набора High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (“Applied Biosystems”, США), используя 100 нг выделенной РНК. Количество и качество синтезированной кДНК оценивали с помощью спектрофотометра NanoDrop™ 2000. До начала следующего этапа эксперимента синтезированную кДНК хранили при температуре -20°C.

Экспрессию генов *IL1B*, *IL6*, *IL8*, *IL10*, *IL12A*, *IL12B*, *IL18*, *IL23* и *CCL2* оценивали с помощью количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР) с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени с флуоресцентным красителем SYBR Green, а генов *IL33* и *IL1RL1* — с помощью кПЦР с праймерами TaqMan™ Gene Expression Assays (“Applied Biosystems”) на амплификаторе ViiA 7 Real-Time PCR System (“Applied Biosystems”). Характеристика праймеров представлена в таблице 1.

В случае с генами *IL1B*, *IL6*, *IL8*, *IL10*, *IL12A*, *IL12B*, *IL18*, *IL23* и *CCL2* на каждый образец готовили 10 мкл реакционной смеси, содержащей 5 мкл мастер-микса PowerUp™ SYBR® Green Master Mix (“Applied Biosystems”), смесь прямого и обратного праймеров в конечной концентрации 500 нМ и 10 нг кДНК. Для генов *IL33* и *IL1RL1* готовили 20 мкл реакционной смеси, содержащей 10 мкл мастер-микса TaqMan™ Gene Expression

Таблица 1. Характеристика праймеров, использованных в эксперименте

Ген	Последовательность/Референсный номер
<i>IL1B</i>	Прямой: 5'-CCGACCACCACTACAGCAAG-3' Обратный: 5'-GGGCAGGGAACCAGCATCTT-3'
<i>IL6</i>	Прямой: 5'-GGCACTGGCAGAAAACAACC-3' Обратный: 5'-GCAAGTCTCTCATTTGAATCC-3'
<i>IL8</i>	Прямой: 5'-CAGAGACAGCAGAGCACAC-3' Обратный: 5'-AGTTCTTTAGCACTCCTTGGC-3'
<i>IL10</i>	Прямой: 5'-GGAGGACTTTAAGGGTTAC-3' Обратный: 5'-TTCACAGGGAAGAAATCG-3'
<i>IL12A</i>	Прямой: 5'-GCCTTCACCACTCCCAAAAC-3' Обратный: 5'-TGCTGGCCTTCTGGAGCAT-3'
<i>IL12B</i>	Прямой: 5'-GGACATCATCAAACCTGACC-3' Обратный: 5'-AGGGAGAAGTAGGAATGTGG-3'
<i>IL23</i>	Прямой: 5'-CTCAGGGACAACAGTCAGTTC-3' Обратный: 5'-ACAGGGCTATCAGGGAGCA-3'
<i>ACTB</i>	Прямой: 5'-CATCGAGCACGGCATCGTCA-3' Обратный: 5'-TAGCACAGCCTGGACAGCAAC-3'
<i>GAPDH</i>	Прямой: 5'-AGCCACATCGCTCAGACAC-3' Обратный: 5'-GCCCAATACGACCAAAATCC-3'
<i>B2M</i>	Прямой: 5'-TCCATCCGACATTGAAGTTG-3' Обратный: 5'-CGGCAGGCATACTCATCTT-3'
<i>IL33</i>	Hs04931857_m1
<i>IL1RL1</i>	Hs00249384_m1
<i>GAPDH</i> (для <i>IL33</i> и <i>IL1RL1</i>)	Hs02758991_g1
<i>B2M</i> (для <i>IL33</i> и <i>IL1RL1</i>)	Hs00187842_m1

Master Mix ("Applied Biosystems"), 1 мкл праймеров и 9 мкл кДНК в конечной концентрации 50 нг/мкл. ПЦР проводили в 96-луночной оптической плашке, 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 трёх 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 путём анализа кривых плавления и графиков амплификации в программе QuantStudio™ Real-Time PCR Software v.1.3 ("Applied Biosystems"). Результаты кПЦР нормировали с помощью трёх референсных генов *ACTB*, *GAPDH*, *B2M* (табл. 1) в соответствии с имеющимися рекомендациями [7]. Экспрессию изучаемых генов рассчитывали по методу $2^{-\Delta\Delta C_t}$ и выражали в виде кратного изменения относительно контрольных образцов.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программы GraphPad Prism 8.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В нашем эксперименте выделены образцы РНК (диапазон концентраций от 168,7 нг/мкл 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 $A_{260/280} > 1,80$).

В результате проведённых исследований (табл. 2) все гены были разделены на четыре группы по характеру изменения их экспрессии в створках клапанов сердца пациентов с ИЭ: (i) гены с повышенной экспрессией (*IL1B*, *IL6* и *IL8*); (ii) гены с пониженной экспрессией (*IL33* и *IL1RL1*); (iii) гены, экспрессия которых значимо не изменялась (*IL12A*, *IL18*, *IL23* и *CCL2*) и (iv) гены, экспрессия которых в изученных образцах не обнаружена (*IL10* и *IL12B*).

В первую группу попали гены, кодирующие провоспалительные цитокины, что свидетельствует о развитии локального иммунного ответа на патогенную бактерию и неспецифическом воспалительном процессе. Ряд исследований показывает, что в отличие от здоровых доноров пациенты с ИЭ характеризуются отличающимся цитокиновым профилем [4, 5, 8]. Макрофаги активно синтезируют провоспалительные цитокины, которые отвечают за развитие воспалительной реакции, в то время как регуляторные и противовоспалительные цитокины контролируют её развитие. Хемокины ответственны за активацию и миграцию лейкоцитов к очагу инфекции, а факторы роста активируют или ингибируют пролиферацию клеток. Получены достоверные данные о повышении концентрации IL6 и IL8 в плазме крови пациентов с ИЭ по сравнению с контрольной группой, а IL1B определялся только у пациентов с данной патологией [4]. Более того, увеличение секреции IL6 и IL8 у пациентов с протезным ИЭ ассоциировано с повышенным риском летального исхода [9]. Было также показано, что генотип G/A гена *IL6* с.471+870G>A и аллель T гена *IL1B* с.315C>T ассоциированы с повышенным риском развития ИЭ [6]. Следует отметить, что повышение концентрации данных цитокинов у пациентов с ИЭ не может служить специфическим маркером данной патологии: являясь белками острой фазы воспаления, эти цитокины активно экспрессируются при развитии любых воспалительных процессов, в том числе и неинфекционной природы [10].

Более интересные данные получены при анализе экспрессии протективного *IL1RL1* и его лиганда *IL33* в группе пациентов с ИЭ относительно контроля. На сегодняшний день известно, что комплекс IL33/IL1RL1 относится к числу наиболее специфичных генетических предикторов сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе и ИЭ [11]. Роль данного комплекса в патогенезе ИЭ заключается в активации Т-хелперов 2 подтипа посредством регуляции экспрессии димерного рецепторного комплекса ST2L и IL1RacP [12]. Это приводит к активации В-лимфоцитов, выработке

Таблица 2. Уровень экспрессии генов цитокинов в створках клапанов сердца пациентов с инфекционным эндокардитом

Ген	Контроль (условные единицы, Me \pm IQR)	Пациенты (условные единицы, Me \pm IQR)	Кратность изменения (по сравнению с контролем)
<i>IL8</i>	0,004956 \pm 0,027885	0,048715 \pm 0,420911	9,83*
<i>IL1B</i>	0,001548 \pm 0,003507	0,009387 \pm 0,065388	6,06*
<i>IL6</i>	0,002326 \pm 0,005356	0,014032 \pm 0,063641	6,03**
<i>IL23</i>	0,000224 \pm 0,000234	0,000278 \pm 0,000303	1,24
<i>IL12A</i>	0,000431 \pm 0,000317	0,000455 \pm 0,000237	1,06
<i>IL18</i>	0,018290 \pm 0,027784	0,013266 \pm 0,020154	0,73
<i>CCL2</i>	0,343878 \pm 0,367027	0,248975 \pm 0,206749	0,72
<i>IL33</i>	0,057470 \pm 0,019397	0,031421 \pm 0,045217	0,55*
<i>IL1RL1</i>	0,003120 \pm 0,004435	0,000736 \pm 0,001037	0,24*
<i>IL10</i>	—	—	—
<i>IL12B</i>	—	—	—

Примечание: Me — медиана; IQR — межквартильный размах. Различия значимы на уровне: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$.

интерлейкинов IL4, IL5 и IL13 и развитию гуморального иммунного ответа. IL33 способен активировать эндотелиальные клетки и регулировать экспрессию молекул клеточной адгезии [13], что позволяет сделать вывод о его значимой роли в патогенезе ИЭ. Комплекс IL33/IL1RL1 посредством активации димерного рецепторного комплекса ST2L и IL1RacP также способен снижать секрецию IL6 [14], что, в свою очередь, влияет на экспрессию молекул клеточной адгезии, в частности, ICAM1 [15].

Таким образом, снижение экспрессии генов *IL1RL1* и *IL33* в группе пациентов с ИЭ может свидетельствовать об их значимой роли в формировании индивидуальной чувствительности к развитию данной патологии. Можно предположить, что индивидуумы со сниженной локальной экспрессией данных генов обладают повышенным риском заселения клапанов сердца патогенными микроорганизмами, и, как следствие, развитием воспалительного процесса.

В данном исследовании не было выявлено корреляций между уровнем экспрессии изучаемых генов с половозрастными и клиническим показателями пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённого исследования впервые были показаны особенности локальной экспрессии генов цитокинов в створках нативных клапанов сердца пациентов с ИЭ. Установлено, что патогенная бактериemia вызывает неспецифическое повышение экспрессии провоспалительных цитокинов *IL1B*, *IL6* и *IL8*. Обнаружено, что в клапанах пациентов с ИЭ наблюдается значительное снижение экспрессии протективных цитокинов *IL33* и *IL1RL1*, что, вероятно, может служить специфическим молекулярно-генетическим маркером повышенного риска развития данной патологии.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2019-0002.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Дизайн исследования был одобрен локальным этическим комитетом НИИ КПССЗ (протокол №20 от 24.11.2016). Исследование выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинской декларации. Все пациенты, включённые в исследования, были информированы о его целях и задачах, а также о возможных рисках. От каждого пациента получено добровольное подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Baddour L.M., Wilson W.R., Bayer A.S., Fowler V.G. Jr., Tleyjeh I.M., Rybak M.J., Barsic B., Lockhart P.B., Gewitz M.H., Levison M.E., Bolger A.F., Steckelberg J.M., Baltimore R.S., Fink A.M., O'Gara P., Taubert K.A.; American Heart Association Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease of the Council on Cardiovascular Disease in the Young, Council on Clinical Cardiology, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, and Stroke Council (2015) *Circulation*, **132**(15), 1435-1486.
2. Синицкий М.Ю., Асанов М.А., Тхоренко Б.А., Одаренко Ю.Н., Понасенко А.В. (2018) Клиническая лабораторная диагностика, **63**(10), 636-640. [Sinitsky M.Yu., Asanov M.A., Tkhorenko B.A., Odarenko Y.N., Ponosenko A.V. (2018) *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika* (Russian Clinical Laboratory Diagnostics), **63**(10), 636-640.]
3. Завырылина И.Н., Барбараш Н.А., Начева Л.В. (2012) Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний, №2, 60-63. [Zavyrylina I.N., Barbarash N.A., Nacheva L.V. (2012) *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*, No.2, 60-63.]
4. Diab M., Tasar R., Sponholz C., Lehmann T., Pletz M.W., Bauer M., Brunkhorst F.M., Doenst T. (2020) *PLoS ONE*, **15**(2), e0228286. DOI: 10.1371/journal.pone.0228286.
5. Ris T., Teixeira-Carvalho A., Coelho R.M.P., Brandao-de-Resende C., Gomes M.S., Amaral L.R., Pinto P.H.O.M., Santos L.J.S., Salles J.T., Roos-Hesselink J., Verkaik N., Ferrari T.C.A., Nunes M.C.P. (2019) *Clin. Exp. Immunol.*, **196**(3), 374-382.
6. Weinstock M., Grimm I., Dreier J., Knabbe C., Vollmer T. (2014) *PLoS ONE*, **9**(10), e110151. DOI: 10.1371/journal.pone.0110151.
7. Vandesompele J., de Preter K., Pattyn F., Poppe B., van Roy N., de Paep A., Speleman F. (2002) *Genome Biol.*, **3**(7), research0034.1. DOI: 10.1186/gb-2002-3-7-research0034.
8. Araújo I.R., Ferrari T.C., Teixeira-Carvalho A., Campi-Azevedo A.C., Rodrigues L.V., Guimarães Júnior M.H., Barros T.L., Gelape C.L., Sousa G.R., Nunes M.C. (2015) *PLoS ONE*, **10**(7), e0133631. DOI: 10.1371/journal.pone.0133631.
9. Bustamante J., Arévalo A., Tamayo E., Sarria C., Aguilar-Blanco E.M., Heredia M., Almansa R., Rico L., Iglesias V., Bermejo-Martin J.F. (2014) *APMIS*, **122**(6), 526-529.
10. Stewart A.G., Beart P.M. (2016) *Br. J. Pharmacol.*, **173**(4), 631-634.
11. Milovanovic M., Volarevic V., Radosavljevic G., Jovanovic I., Pejnovic N., Arsenijevic N., Lukic M.L. (2012) *Immunol. Res.*, **52**(1-2), 89-99.
12. Liu X., Hammel M., He Y., Tainer J.A., Jeng U.S., Zhang L., Wang S., Wang X. (2013) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**(37), 14918-14923.
13. Küchler A.M., Pollheimer J., Balogh J., Sponheim J., Manley L., Sorensen D.R., de Angelis P.M., Scott H., Haraldsen G. (2008) *Am. J. Pathol.*, **173**(4), 1229-1242.
14. Palmer G., Lipsky B.P., Smithgall M.D., Meininger D., Siu S., Talbot-Ayer D., Gabay C., Smith D.E. (2008) *Cytokine*, **42**(3), 358-364.
15. Romano M., Sironi M., Toniatti C., Polentarutti N., Fruscella P., Ghezzi P., Faggioni R., Luini W., van Hinsbergh V., Sozzani S., Bussolino F., Poli V., Ciliberto G., Mantovani A. (1997) *Immunity*, **6**(3), 315-325.

Поступила в редакцию: 10. 07. 2020.

После доработки: 25. 08. 2020.

Принята к печати: 25. 08. 2020.

THE EXPRESSION LEVEL OF CYTOKINE GENES
IN THE CASES OF NATIVE HEART VALVES IN INFECTIOUS ENDOCARDITIS

M.Yu. Sinitsky, A.V. Tsepokina, M.A. Asanov, Ya.V. Kazachek, A.V. Evtushenko, A.V. Ponasenko*

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases,
6 Sosnovy blvd., Kemerovo, 650002 Russia; *e-mail: cepoav1991@gmail.com

The expression level of *IL1B*, *IL6*, *IL8*, *IL10*, *IL12A*, *IL12B*, *IL18*, *IL23*, *IL33*, *CCL2*, and *IL1RL1* has been investigated using biopsies of native mitral, aortic, and tricuspid valves obtained during surgical correction of acquired defect from 25 patients with infectious endocarditis. Biopsies of native mitral and aortic valve cusps from 12 patients who underwent surgical correction of acquired heart disease of non-infectious etiology were used as control. We used quantitative PCR with fluorescent dye SYBR Green for determination of the cytokine gene expression level. This study revealed that genes could be subdivided into three groups: (i) genes with increased expression (*IL1B*, *IL6*, and *IL8*); (ii) genes with reduced expression (*IL33* and *IL1RL1*); (iii) genes with unchanged expression (*IL12A*, *IL18*, *IL23*, and *CCL2*). The *IL8* gene expression was characterized by the most pronounced increase (9.83 times versus control), while the *IL1RL1* gene demonstrated the most pronounced decrease in its expression (4.17 times). Expression of *IL10* and *IL12B* genes was negligible in all samples.

Key words: infective endocarditis; cytokines; inflammation; gene expression

Funding. This work was performed within the framework of the Program of Basic Research of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences and the basic research of the Kuzbass Cardiology Center (No. 0546-2019-0002).

Received: 10.07.2020; revised: 25.08.2020; accepted: 25.08.2020.