

Провоспалительные цитокины ИЛ-6, ИЛ-1β, ФНО-α при инфекционном эндокардите

Е.О. Котова^{✉1-3}, А.Ю. Моисеева¹, Ж.Д. Кобалава^{1,2}, А.В. Лохонина^{1,4}, А.С. Писарюк^{1,2}, Т.А. Гусарова², Т.Х. Фатхудинов^{1,4}, Э.А. Домонова³

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва, Россия;

²ФГБУЗ «Клиническая больница им. В.В. Виноградова», Москва, Россия;

³ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия;

⁴Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», Москва, Россия

Аннотация

Цель. Изучить особенности макрофагов в тканях резецированных клапанов у оперированных пациентов с инфекционным эндокардитом (ИЭ), их значения и связи с маркерами воспаления для повышения эффективности диагностики ИЭ.

Материалы и методы. Проспективно исследованы 25 взрослых пациентов с активным ИЭ (критерии Дюка 2015 г.) и 24 пациента с пороками сердца без ИЭ, госпитализированных в кардиохирургический стационар г. Москвы (2021–2022 гг.). Проведено стандартное лабораторно-инструментальное обследование по диагнозу ИЭ, включая этиологическую диагностику микробиологическими и молекулярно-биологическими методами, и эхокардиографическое исследование сердца. Дополнительно вычислялся нейтрофильно-лимфоцитарный индекс (НЛИ). Исследование макрофагов проводилось в тканях резецированных клапанов с определением экспрессии генов про- и противовоспалительных цитокинов, маркеров макрофагов (CD 68+) методом полимеразной цепной реакции Real Time.

Результаты. Выявлена высокая экспрессия провоспалительных цитокинов интерлейкина (ИЛ)-1β, фактора некроза опухоли α и ИЛ-6 в группе оперированных пациентов с ИЭ с достоверными отличиями по ИЛ-1β (Me [IQR] 0,00367 [0,00047–0,01553] против 0,00018 [0,00012–0,00262]; $p < 0,05$) и ИЛ-6 (Me [IQR] 0,00338 [0,00066–0,01674] против 0,00054 [0,00044–0,00378]; $p < 0,05$). Экспрессия противовоспалительных цитокинов макрофагами в тканях клапанов преобладала в группе контроля без достоверных отличий от пациентов с ИЭ. У всех обследованных выявлен маркер макрофагов CD 68+ с достоверным количественным преобладанием в группе пациентов с ИЭ. Не выявлено различий в экспрессии про- и противовоспалительных цитокинов макрофагами в зависимости от наличия эмболических событий, внутрисердечных осложнений, этиологической принадлежности к *Staphylococcus aureus*, а также госпитальной летальности и комбинированной конечной точки (смерть от всех причин или рецидив ИЭ через 6 мес после операции) у пациентов с ИЭ с событиями или без. Цитокины ИЛ-1β и ИЛ-6 положительно коррелировали между собой, с лейкоцитами и НЛИ. ROC-анализ определил, что ИЛ-1β и НЛИ имели наиболее благоприятные характеристики для диагностики ИЭ: ИЛ-1β AUC 0,816 ($p = 0,02$), НЛИ AUC 0,807 ($p = 0,03$). ИЛ-6 не показал диагностического значения при ИЭ. Пороговое значение для ИЛ-1β составило 0,00029 (чувствительность – 86,4%, специфичность – 60,0%, прогностическая ценность отрицательного – 75,0% и положительного результата – 76,0%, AUC 0,761; $p = 0,008$).

Заключение. Макрофаги клапанов пациентов с ИЭ экспрессируют высокие уровни провоспалительных цитокинов ИЛ-1β и ИЛ-6 вне зависимости от этиологической принадлежности или осложненного течения ИЭ. ИЛ-1β обладает высокой диагностической ценностью для определения активности воспаления при ИЭ.

Ключевые слова: инфекционный эндокардит, цитокины, макрофаги, диагностика, прогноз

Для цитирования: Котова Е.О., Моисеева А.Ю., Кобалава Ж.Д., Лохонина А.В., Писарюк А.С., Гусарова Т.А., Фатхудинов Т.Х., Домонова Э.А. Провоспалительные цитокины ИЛ-6, ИЛ-1β, ФНО-α при инфекционном эндокардите. Терапевтический архив. 2024;96(4):342–348. DOI: 10.26442/00403660.2024.04.202711

© ООО «КОНСИЛИУМ МЕДИКУМ», 2024 г.

Информация об авторах / Information about the authors

✉ **Котова Елизавета Олеговна** – д-р мед. наук, доц., доц. каф. внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева Медицинского института ФГАОУ ВО РУДН, врач-кардиолог ФГБУЗ «КБ им. В.В. Виноградова», консультант организационно-методического отд. административно-управленческого подразделения ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии». E-mail: kotova_eo@pfur.ru

Моисеева Александра Юрьевна – канд. мед. наук, ассистент каф. внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева Медицинского института ФГАОУ ВО РУДН

Кобалава Жанна Давидовна – чл.-кор. РАН, д-р мед. наук, проф., зав. каф. внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева Медицинского института ФГАОУ ВО РУДН, врач-кардиолог ФГБУЗ «КБ им. В.В. Виноградова»

Лохонина Анастасия Вячеславовна – канд. биол. наук, доц. каф. гистологии, цитологии и эмбриологии Медицинского института ФГАОУ ВО РУДН, науч. сотр. НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского»

Писарюк Александра Сергеевна – канд. мед. наук, доц. каф. внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики им. акад. В.С. Моисеева Медицинского института ФГАОУ ВО РУДН, врач-кардиолог отделения реанимации и интенсивной терапии ФГБУЗ «КБ им. В.В. Виноградова»

✉ **Elizaveta O. Kotova.** E-mail: kotova_eo@pfur.ru; ORCID: 0000-0002-9643-5089

Alexandra Yu. Moiseeva. ORCID: 0000-0003-0718-5258

Zhanna D. Kobalava. ORCID: 0000-0002-5873-1768

Anastasiya V. Lokhonina. ORCID: 0000-0001-8077-2307

Alexandra S. Pisaryuk. ORCID: 0000-0003-4103-4322

Proinflammatory cytokines IL-6, IL-1 β , TNF- α in infective endocarditis

Elizaveta O. Kotova^{1,2,3}, Alexandra Yu. Moiseeva¹, Zhanna D. Kobalava^{1,2}, Anastasiya V. Lokhonina^{1,4}, Alexandra S. Pisaryuk^{1,2}, Tatyana A. Gusarova², Timur Kh. Fatkhudinov^{1,4}, Elvira A. Domonova³

¹Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia;

²Vinogradov Clinical Hospital, Moscow, Russia;

³Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia;

⁴Avtsyn Research Institute of Human Morphology of Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russia

Abstract

Aim. To study the features of macrophages in the tissues of resected valves in operated patients with infective endocarditis (IE), their significance and interaction with inflammatory markers to improve the effectiveness of IE diagnosis.

Materials and methods. Prospectively the research included 25 adult patients with active IE (Duke criteria 2015) and 24 patients with heart defects without IE, hospitalized in a cardiosurgical hospital in Moscow (2021–2022). A standard laboratory and instrumental examination was carried out for the diagnosis of IE, including etiological diagnosis with microbiological and molecular biological methods, and echocardiographic examination of heart. Additionally, the neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) was calculated. The study of macrophages was carried out in the tissues of resected valves with the determination of the expression of pro- and anti-inflammatory cytokine genes, macrophage markers (CD 68+) using real-time PCR.

Results. Increased expression of proinflammatory cytokines IL-1 β , TNF- α and IL-6 was revealed in the group of operated patients with IE with significant differences in IL-1 β (CI [IQR] 0.00367 [0.00047–0.01553] vs 0.00018 [0.00012–0.00262]; $p < 0.05$) and IL-6 (CI [IQR] 0.00367 [0.00047–0.01553] vs 0.00018 [0.00012–0.00262]; $p < 0.05$) and IL-6 (CI [IQR] 0.00338 [0.00066–0.01674] vs 0.00054 [0.00044–0.00378]; $p < 0.05$). The expression of anti-inflammatory cytokines in valve tissues prevailed in the control group without significant differences from patients with IE. The macrophage marker CD 68+ was revealed in all examined patients with a significant quantitative predominance in the group of patients with IE. There were no differences in the expression of pro- and anti-inflammatory cytokines depending on the presence of embolic events, intracardiac complications, etiological affiliation to *S. aureus*, as well as hospital mortality and combined endpoint (death from all causes or recurrence of IE 6 months after surgery) in patients with IE with or without events. Cytokines IL-1 β and IL-6 positively correlated with each other, with leukocytes and NLR. ROC analysis determined that IL-1 β and NLR had the most favorable features for the diagnosis of IE [IL-1 β AUC 0.816 ($p = 0.02$), NLR AUC 0.807 ($p = 0.03$)]. IL-6 did not show a diagnostic value in IE. The threshold value for IL-1 β was 0.00029 (sensitivity 86.4%, specificity 60.0%, prognostic value of negative result 75.0% and positive 76.0%, AUC 0.761; $p = 0.008$).

Conclusion. The valve macrophages of patients with IE express elevated levels of proinflammatory cytokines IL-1 β and IL-6, regardless of etiological affiliation or complicated course of IE. IL-1 β has a high diagnostic value for determining the inflammatory activity in IE.

Keywords: infective endocarditis, cytokines, macrophages, diagnosis, prognosis

For citation: Kotova EO, Moiseeva AY, Kobalava ZHD, Lokhonina AV, Pisaryuk AS, Gusarova TA, Fatkhudinov TKh, Domonova EA. Proinflammatory cytokines IL-6, IL-1 β , TNF- α in infective endocarditis. *Terapevticheskii Arkhiv (Ter. Arkh.)*. 2024;96(4):342–348. DOI: 10.26442/00403660.2024.04.202711

Относительно высокая летальность при инфекционном эндокардите (ИЭ) определяет необходимость поиска быстрых маркеров диагностики для обеспечения своевременного начала лечения. Диагноз современного ИЭ устанавливается на основании модифицированных критериев Дюка 2023 г. [1], однако, когда результаты микробиологического исследования крови остаются негативными и визуализация при эхокардиографии затруднена, чувствительность критериев значительно снижается. Для улучшения этиологической диагностики ИЭ предложено проведение дополнительных иммунохимических и молекулярно-биологических исследований крови и/или тканей резецированных клапанов [1, 2]. Для решения проблем, связанных с трудностями визуализации, рекомендовано более широкое применение компьютерной томографии сердца, однофотонной эмиссионной компьютерной томографии с мечеными лейкоцитами и позитронно-эмиссионной томографии с фтордезоксиглюкозой [1]. Однако измерение сывороточных белков острой фазы и цитокинов также может иметь значение для быстрой диагностики ИЭ.

Цитокины образуются разными клетками – лимфоцитами, макрофагами, фибробластами, эндотелиальными клетками и другими, стимулируя образование антител и высвобождение белков острой фазы. Интерлейкин (ИЛ)-6, ИЛ-1 β и фактор некроза опухоли α (ФНО- α) играют важную роль в процессах воспаления. Новое представление о патогенезе ИЭ в рамках имунотромбоза основано на сложном взаимодействии возбудителя с тромбоцитами, эндотелием и иммунными клетками [3, 4]. Ключевым компонентом врожденного иммунитета являются макрофаги, участие которых исследовано недостаточно [5, 6]. Известна связь провоспалительных макрофагов с неблагоприятным прогнозом у пациентов с сепсисом [7, 8]. При ИЭ исследования экспрессии цитокинов макрофагами являются новой малоизученной областью [9–11].

В этом исследовании мы определили сывороточные уровни экспрессии генов про- и противовоспалительных цитокинов у пациентов с достоверным ИЭ, сравнили их титры с группой неинфицированных пациентов с пороками

Информация об авторах / Information about the authors

Гусарова Татьяна Анатольевна – зав. патологоанатомическим отделением ФГБУЗ «КБ им. В.В. Виноградова»

Tatyana A. Gusarova. ORCID: 0000-0003-1827-2197

Фатхудинов Тимур Хайсамудинович – д-р мед. наук, доц., зав. каф. гистологии, цитологии и эмбриологии Медицинского института ФГАОУ ВО РУДН, вед. науч. сотр., доц. НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского»

Timur Kh. Fatkhudinov. ORCID: 0000-0002-6498-5764

Домонова Эльвира Алексеевна – канд. биол. наук, рук. научной группы разработки новых методов диагностики оппортунистических и папилломавирусных инфекций отд. молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии»

Elvira A. Domonova. ORCID: 0000-0001-8262-3938

сердца, а затем оценили уровни каждого маркера с точки зрения подтверждения диагноза ИЭ.

Цель исследования – изучение особенностей макрофагов в тканях резецированных клапанов у оперированных пациентов с ИЭ, их значения и связи с маркерами воспаления для повышения эффективности диагностики ИЭ.

Материалы и методы

В проспективное исследование включены 25 взрослых пациентов с верифицированным диагнозом активного ИЭ (критерии Дюка 2015 г.) и 24 пациента с пороками сердца без ИЭ, госпитализированных в кардиохирургический стационар г. Москвы с 2021 по 2022 г. Все пациенты подписали информированное согласие на сбор обезличенных медицинских данных. Исключались пациенты с неактивным ИЭ, небактериальным тромбозом сердца, активными онкологическими заболеваниями и получающие иммуносупрессивную терапию. Исследование выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice), принципами Хельсинкской декларации и одобрено локальным этическим комитетом Медицинского института ФГАОУ ВО РУДН (протокол №27 от 18.03.2021).

Всем пациентам выполнены стандартное лабораторно-инструментальное обследование по диагнозу ИЭ, в том числе микробиологическое исследование крови/тканей резецированных клапанов, при необходимости дополненное молекулярно-биологическими исследованиями, и эхокардиографическое исследование сердца. Дополнительно при выполнении клинического анализа крови оценивался расчетный индекс воспаления – нейтрофильно-лимфоцитарный индекс – НЛИ (количество нейтрофилов/количество лимфоцитов). Группы являлись сопоставимыми по основным клинико-демографическим и лабораторно-инструментальным характеристикам (табл. 1).

Исследование макрофагов проводилось в тканях резецированных клапанов. Иссеченную ткань клапанов от каждого пациента помещали в консервирующий буфер для проведения полимеразной цепной реакции Real Time для исследования экспрессии генов провоспалительных (ИЛ-1 β , 6, 12, 23, ФНО- α , индуцируемая синтаза оксида азота – iNOS) и противовоспалительных (аргиназа 1 – Arg-1, ИЛ-10, 4, 13, матриксная металлопротеиназа – ММП-2, ММП-9, тканевой ингибитор металлопротеиназы – ТИМП-1, ТИМП-2) цитокинов макрофагами.

Из полученных образцов выделяли тотальную РНК с помощью набора RNeasy Plus Mini Kit (QIAGEN, Германия). С полученной матрицы тотальной РНК осуществляли синтез копий ДНК готовым набором реактивов MMLV RT kit (Евроген, Россия). С полученными копиями ДНК ставили реакцию с помощью готовых наборов реактивов qPCRmix-HS SYBR, содержащих флуоресцентный интеркалирующий краситель Sybr Green I (Евроген, Россия). Праймеры для исследования методом полимеразной цепной реакции подбирали с помощью программы Primer-BLAST в соответствии с общепринятыми требованиями. Выбранные праймеры для определения генов макрофагов синтезированы фирмой «Евроген» (Россия). Для анализа экспрессии генов использовали метод определения порогового цикла (Ct) и вычисления относительной экспрессии гена по методу M. Pfaffl [12] с учетом рекомендаций J. Vandesompele и соавт. [13]. В качестве эндогенного контроля выбран ген *Gapdh*. Дифференциальная экспрессия ключевых генов, регулирующих воспаление, – провоспалительных и противовоспалительных цитокинов и маркеров макрофагов (CD 68+) – позволила определить роль этой клеточной популяции для заболевания. От каждого пациента исследование проведено однократно.

Таблица 1. Характеристика оперированных пациентов с ИЭ и с клапанными пороками сердца без ИЭ

Table 1. Characteristics of operated patients with infective endocarditis (IE) and with valvular heart disease without infective endocarditis

Показатель	Пациенты с ИЭ (n=25)	Пациенты без ИЭ (n=24)
Мужчины, абс. (%)	18 (72,0)	16 (66,7)
Возраст, Ме [IQR]	55,5 [44,0–70,0]	61,5 [50,8–68,0]
Индекс Чарлсона, Ме [IQR]	3,0 [1,0–6,0]	4,0 [2,0–5,0]
Размер вегетаций, мм, Ме [IQR]	15,5 [0,0–20,0]	-
Фракция выброса ЛЖ, Ме [IQR]	60,0 [56,0–64,0]	58,0 [50,0–63,0]
Гемоглобин, г/л, Ме [IQR]	104,8 [87,5–123,8]	116,0 [101,0–133,0]
Лейкоциты, 10 ⁹ /л, Ме [IQR]	10,2 [7,9–14,4]*	7,8 [6,2–9,8]*
НЛИ, Ме [IQR]	5,9 [3,4–9,6]*	3,0 [2,1–5,9]*
Тромбоциты, 10 ⁹ /л, Ме [IQR]	205,0 [148,3–246,8]	208,8 [178,0–241,0]
Креатинин, мкмоль/л, Ме [IQR]	97,5 [76,1–121,0]	83,6 [71,8–99,7]

Примечание. Ме [IQR] – медиана и интерквартильный размах [25; 75]; *здесь и далее в табл. 2: $p < 0,05$.

Для изучения значимости про- и противовоспалительных маркеров оценивались следующие конечные точки: комбинированный показатель (смерть от всех причин или рецидив ИЭ в течение 6 мес после операции), госпитальная летальность, внутрисердечные осложнения (абсцесс, фистула, перфорация створки клапана и т.д.), эмболические события, инфекционные послеоперационные осложнения (ранний протезный ИЭ, сепсис).

Математическую и статистическую обработку полученных данных проводили с применением пакетов прикладного программного обеспечения IBM SPSS Statistics, Version 27 и Excel 2016 (Microsoft, США). Для описания количественных переменных использовали среднее арифметическое значение (M) и стандартное отклонение среднего значения (SD; для параметрических данных) или медиану (Me) и интерквартильный размах [IQR] (для непараметрических данных). С целью оценки нормальности распределения применялись тест Колмогорова-Смирнова, Skewness тест. Достоверность различий между двумя группами по количественным переменным оценивали при помощи U-критерия Манна-Уитни (для непараметрических данных) и t-теста Стьюдента (для параметрических данных). Качественные переменные описывали абсолютными (n) и относительными (%) значениями. Для определения достоверности различий качественных показателей использовали критерии хи-квадрат (χ^2) и точный критерий Фишера. Корреляционный анализ проведен с расчетом коэффициентов корреляции Пирсона и Спирмена, последний рассчитывался при переменных, имеющих ненормальное распределение. Для сравнения относительных показателей в зависимых совокупностях применялся тест МакНемара. Для сравнения абсолютных показателей в зависимых совокупностях при ненормальном распределении

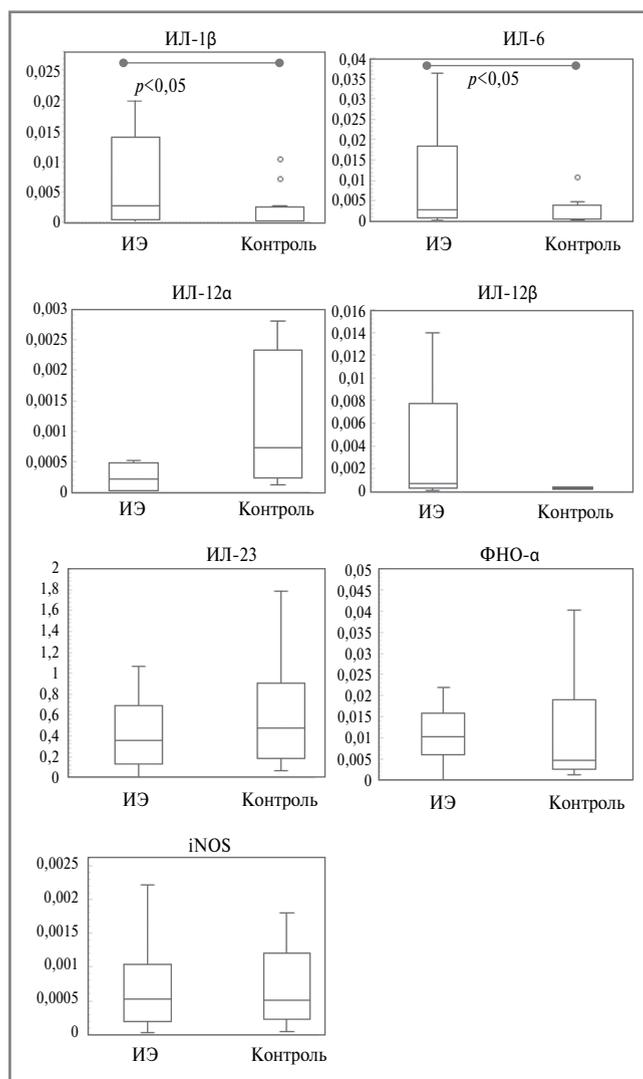


Рис. 1. Сравнение экспрессии провоспалительных цитокинов макрофагами в тканях клапанов у оперированных пациентов с ИЭ и с клапанными пороками без ИЭ (контроль).

Fig. 1. Comparison of pro-inflammatory cytokine expression by macrophages in valve tissues in operated patients with IE and with valvular malformations without IE (control).

использовался критерий Уилкоксона (Wilcoxon), при нормальном распределении – критерий Стьюдента (*t*-test). Для оценки диагностической эффективности и влияния показателей использовали ROC-анализ с определением площади под ROC-кривой (AUC). Пороговые значения устанавливались на основе ROC-анализа (AUC) с выбором балла отсечения при оптимальном соотношении чувствительности и специфичности. Во всех видах анализа статистически значимым считалось значение $p < 0,05$.

Результаты

При исследовании экспрессии цитокинов макрофагами в тканях клапанов показано, что наиболее высокие значения провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ФНО- α и ИЛ-6 получены в группе оперированных пациентов с ИЭ, однако значимые отличия имелись только в отношении ИЛ-1 β (*Me* [IQR] 0,00367 [0,00047–0,01553] против 0,00018 [0,00012–0,00262]; $p < 0,05$) и ИЛ-6 (*Me* [IQR] 0,00338 [0,00066–0,01674] про-

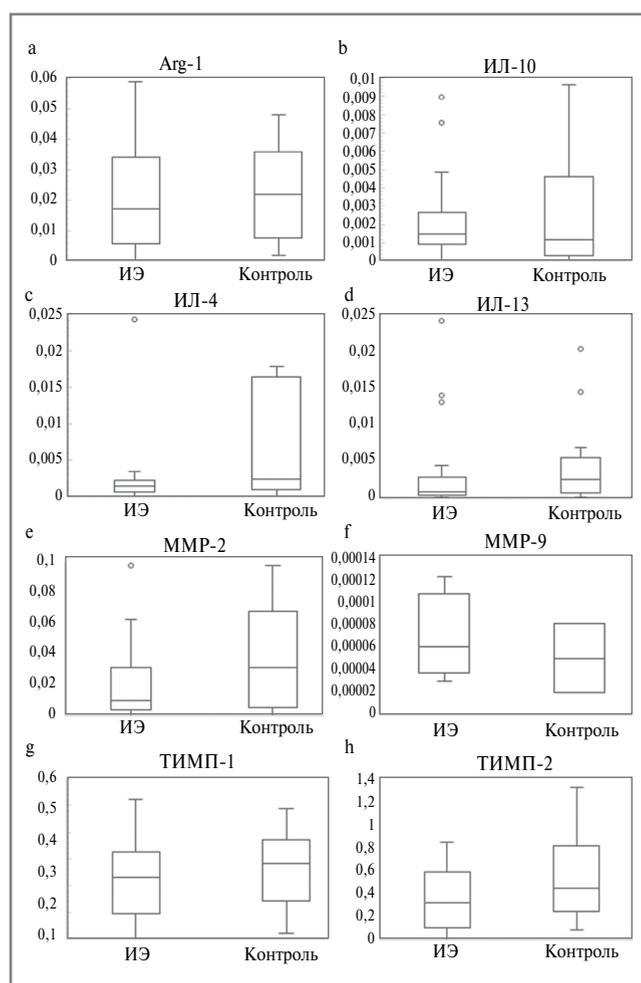


Рис. 2. Сравнение экспрессии противовоспалительных цитокинов макрофагами в тканях клапанов у оперированных пациентов с ИЭ и с клапанными пороками без ИЭ.

Fig. 2. Comparison of expression of anti-inflammatory cytokines by macrophages in valve tissues in operated patients with IE and with valvular malformations without IE.

тив 0,00054 [0,00044–0,00378]; $p < 0,05$); **рис. 1.** В отношении остальных провоспалительных цитокинов (ИЛ-12, ИЛ-23, iNOS) достоверных различий между оперированными пациентами с ИЭ и пороками сердца без ИЭ не получено.

При исследовании экспрессии противовоспалительных цитокинов (Arg-1, ИЛ-10, 4, 13, MMP-2, MMP-9, ТИМП-1, ТИМП-2) макрофагами в тканях клапанов у оперированных пациентов с ИЭ и с пороками сердца без ИЭ более высокие значения отмечались в группе контроля, однако достоверных различий не получено (**рис. 2**).

При этом у всех включенных пациентов основной группы и группы контроля отмечалось наличие маркера макрофагов CD 68+, что позволяло определить роль именно макрофагов в экспрессии про- и противовоспалительных цитокинов, с достоверным количественным преобладанием в группе оперированных пациентов с ИЭ (**рис. 3**).

По результатам исследования провоспалительных и противовоспалительных цитокинов макрофагами в зависимости от наличия эмболических событий, внутрисердечных осложнений, этиологической принадлежности к *S. aureus*, а также госпитальной летальности и комбинированной конечной

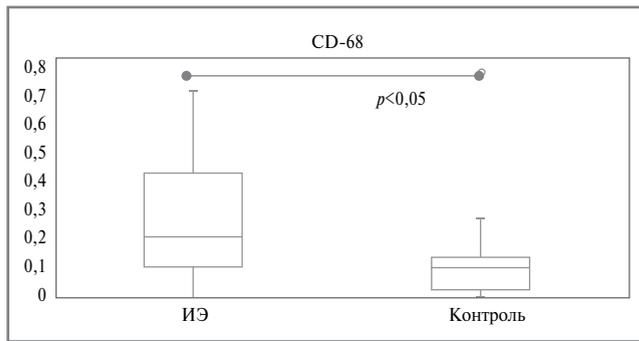


Рис. 3. Сравнение экспрессии маркера макрофагов CD 68+ в тканях клапанов у оперированных пациентов с ИЭ и с клапанными пороками без ИЭ.

Fig. 3. Comparison of CD68+ macrophage marker expression in valve tissues in operated patients with IE and with valvular malformations without IE.

Таблица 2. Корреляционный анализ взаимосвязей провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-6 с лабораторными маркерами

Table 2. Correlation analysis of the relationship of pro-inflammatory cytokines IL-1 β and IL-6 with laboratory markers

Маркеры	ИЛ-1 β	ИЛ-6
ИЛ-1 β	–	$r=0,78^*$
ИЛ-6	$r=0,78^*$	–
Гемоглобин, $\times 10^{12}/л$	$r=-0,71^*$	$r=-0,36$
RDW, %	$r=0,31$	$r=0,20$
Лейкоциты, $\times 10^9/л$	$r=0,77^*$	$r=0,70^*$
Тромбоциты, $\times 10^9/л$	$r=0,25$	$r=0,36$
НЛИ	$r=0,67^*$	$r=0,76^*$

точки (смерть от всех причин или рецидив ИЭ через 6 мес после операции) достоверных различий между оперированными пациентами с ИЭ с событиями или без не получено.

При изучении взаимосвязей провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-6 с лабораторными маркерами у оперированных пациентов с ИЭ показано, что ИЛ-1 β и ИЛ-6 имеют сильные и умеренно положительные связи между собой, с уровнем лейкоцитов и НЛИ (табл. 2).

При проведении ROC-анализа выявлено, что ИЛ-1 β , лейкоцитоз и НЛИ продемонстрировали наиболее благоприятные характеристики для применения в качестве диагностических тестов у пациентов с ИЭ – площадь под кривой для ИЛ-1 β составила 0,816 ($p=0,02$), для НЛИ – 0,807 ($p=0,03$), для лейкоцитов – 0,714 ($p=0,03$). ИЛ-6 не показал прогностической значимости в качестве диагностического теста у пациентов с ИЭ. Пороговое значение ИЛ-1 β для диагностики активности ИЭ составило 0,00029 (чувствительность – 86,4%, специфичность – 60,0%, прогностическая ценность отрицательного результата 75,0% и прогностическая ценность положительного результата 76,0%, площадь под кривой – 0,761; $p=0,008$); **рис. 4.**

Таким образом, при изучении экспрессии цитокинов макрофагами в тканях клапанов оперированных пациентов с ИЭ отмечено преобладание провоспалительных маркеров, в первую очередь за счет ИЛ-1 β и ИЛ-6, без достоверных отличий в отношении противовоспалительных маркеров при сравнении с группой контроля (оперирован-

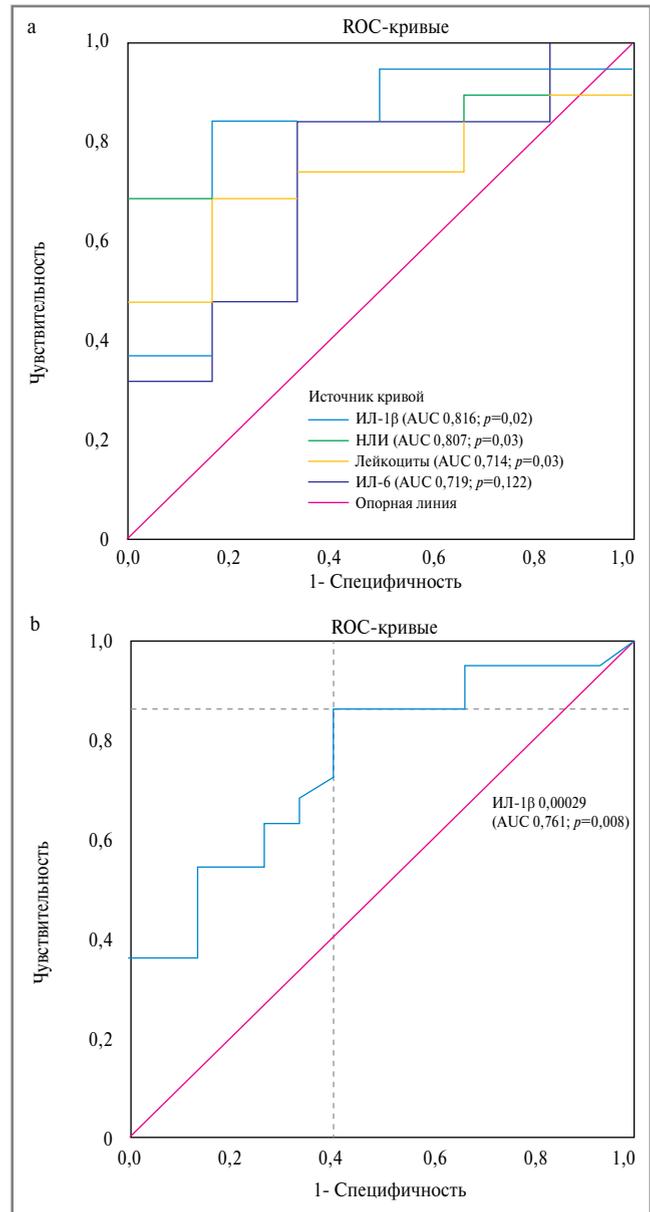


Рис. 4. ROC-кривая диагностических характеристик ИЛ-1 β , уровня лейкоцитов, НЛИ и ИЛ-6 при сравнении оперированных пациентов с ИЭ и с клапанными пороками без ИЭ (контроль): а – диагностические характеристики маркеров для выявления ИЭ; б – определения порогового значения ИЛ-1 β .

Fig. 4. ROC curve of the diagnostic characteristics of IL-1 β , WBC, NLI and IL-6 when comparing operated patients with IE and with valvular malformations without IE (control): a – diagnostic characteristics of markers for the detection of infectious endocarditis; b – IL-1 β threshold.

ные пациенты с пороком сердца без ИЭ). При этом не получено достоверных различий по уровню экспрессии про- или противовоспалительных цитокинов среди пациентов с ИЭ в зависимости от наличия осложнений или стафилококковой принадлежности ИЭ. При пороговом значении ИЛ-1 β 0,00029 продемонстрирована его высокая диагностическая ценность для оценки активности воспаления при ИЭ, превосходящая параметр повышенного уровня лейкоцитов и сопоставимая с НЛИ.

Обсуждение

Морфофункциональные характеристики макрофагов у пациентов с инфекциями кровотока исследованы недостаточно, преимущественно при сепсисе с преобладанием экспериментальных данных. При изучении экспрессии цитокинов показана разнонаправленная связь с про- и противовоспалительными фенотипами макрофагов [5, 6, 9, 14]. Макрофаги являются ключевым компонентом врожденного иммунитета, широко распространены в различных тканях и выполняют множественные функции, включая секрецию различных типов про- и противовоспалительных цитокинов [6, 14-16]. Ряд исследователей продемонстрировали, что у пациентов с сепсисом развивается дисбаланс между M1- и M2-фенотипами макрофагов [7, 8, 14, 17]. Патогенез ИЭ остается не до конца изученным процессом, при этом предполагается связь провоспалительных цитокинов, в первую очередь экспрессируемых макрофагами, с развитием локальной и системной воспалительной реакции, повреждением тканей клапанов и индукцией прокоагулянтной активности, определяющих формирование вегетаций.

Мы изучили экспрессию цитокинов макрофагами у оперированных пациентов с ИЭ, что позволило выявить тенденции к преобладанию провоспалительных цитокинов с достоверными отличиями по уровню ИЛ-1 β и ИЛ-6 от оперированных пациентов с клапанными пороками без ИЭ, что ранее показано в экспериментальных исследованиях на животных и единичных клинических исследованиях [18-21]. Интересным оказалось отсутствие различий по уровню экспрессии провоспалительных цитокинов у пациентов с ИЭ в зависимости от наличия осложнений, этиологии ИЭ и госпитальной летальности, что ранее также отмечено P. Alter и соавт. (2002 г.) и R. Watkin и соавт. (2007 г.) [19, 20]. ИЭ, вызванный *S. aureus*, традиционно ассоциирован с тяжелым деструктивным поражением клапанного аппарата, в связи с чем предположение о провоспалительных цитокинах, в первую очередь ИЛ-6, ИЛ-1 β и ФНО- α , как основных участников патогенеза является обоснованным [10]. Несмотря на то, что мы не получили достоверных отличий между пациентами со стафилококковым и нестафилококковым ИЭ, мы наблюдали не менее чем в 2 раза более высокие уровни провоспалительных цитокинов при ИЭ, вызванном *S. aureus*, что определяет необходимость проведения дальнейших исследований.

Взаимодействие полиморфноядерных нейтрофилов с макрофагами может быть новым малоизученным механизмом, определяющим степень развития воспаления. В нашем исследовании при изучении связи провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-6 с маркерами воспаления у пациентов с ИЭ показано наличие корреляционных связей с лейкоцитами и НЛИ. При этом ИЛ-1 β с определенным пороговым значением 0,00029 при исследовании тканей клапанов продемонстрировал наиболее благоприятные характеристики в качестве диагностического маркера воспаления по сравнению с пациентами без ИЭ, соответствующего по значимости НЛИ. Аналогичные данные ранее продемонстрированы только в отношении ИЛ-6 и С-реактивного белка [19].

В серии ранее выполненных исследований также не удалось выявить достоверных различий в отношении повышенной экспрессии ФНО- α у пациентов с ИЭ, как при сравнении с группой контроля, так и в зависимости от осложненного течения ИЭ [18, 19]. Данное обстоятельство может быть объяснено истощением активности иммунных клеток при постоянной их стимуляции в условиях длительного воспаления, что характерно для ИЭ, и, вероятно, проявляется в снижении экспрессии некоторых цитоки-

нов, в частности ФНО- α , однако данное предположение также требует дальнейшего изучения.

Таким образом, у пациентов с ИЭ выявлена значимая экспрессия провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-6 в тканях клапанов с сильной корреляцией с НЛИ и высокой диагностической ценностью для определения активности воспаления при ИЭ.

Заключение

Макрофаги клапанов пациентов с ИЭ экспрессируют высокие уровни провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-6 вне зависимости от этиологической принадлежности или осложненного течения ИЭ. ИЛ-1 β обладает высокой диагностической ценностью для определения активности воспаления при ИЭ.

Раскрытие интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Disclosure of interest. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Е.О. Котова - разработка концепции, дизайна, анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи, окончательное утверждение для публикации рукописи, ответственный за все аспекты работы; А.Ю. Моисеева - сбор и хранение биологического материала, анализ и интерпретация данных; Ж.Д. Кобалава - разработка концепции, дизайна, обоснование рукописи, окончательное утверждение для публикации рукописи; А.В. Лохонина - обработка и исследование биологического материала, анализ и интерпретация данных, редактирование рукописи; А.С. Писарюк - разработка концепции, дизайна, анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи, редактирование рукописи; Т.А. Гусарова - обработка и исследование биологического материала, анализ и интерпретация данных, редактирование рукописи; Т.Х. Фатхудинов - разработка концепции, дизайна, обоснование рукописи, окончательное утверждение для публикации рукописи; Э.А. Домонова - проведение молекулярно-биологических исследований, анализ и интерпретация данных, редактирование рукописи.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. E.O. Kotova - development of concept, design, analysis and interpretation of data, substantiation of manuscript, final approval for publication of manuscript, responsible for all aspects of work; A.Yu. Moiseeva - collection and storage of biological material, analysis and interpretation of data; Zh.D. Kobalava - concept development, design, manuscript justification, final approval for the publication of manuscript; A.V. Lkhonina - biological material processing and research, data analysis and interpretation, manuscript editing; A.S. Pisaryuk - concept development, data design, analysis and interpretation, manuscript justification, manuscript editing; T.A. Gusarova - processing and research of biological material, data analysis and interpretation, manuscript editing; T.Kh. Fatkhudinov - conception, design, manuscript substantiation, final approval for publication of the manuscript; E.A. Domonova - conducting molecular biological studies, analysis and interpretation of data, editing the manuscript.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект №22-75-10012) с использованием биоматериала человека, собранного и сохраняемого в рамках научной программы. Оборудование для сбора, хранения и транспортировки биоматериала человека, оборудование для обследования

пациентов приобретены за счет средств Программы стратегического академического лидерства РУДН.

Funding source. The work was carried out with the support of a grant from the Russian Scientific Fund (project 22-75-10012) using human biomaterial collected and stored within the framework of the scientific program. Equipment for the collection, storage and transportation of human biomaterial, equipment for the examination of patients have been acquired at the Strategic Academic Leadership Program of RUDN University, Moscow, Russia.

Информированное согласие на публикацию. Пациенты подписали форму добровольного информированного согласия на публикацию медицинской информации.

Consent for publication. Written consent was obtained from the patients for publication of relevant medical information and all of accompanying images within the manuscript.

Соответствие принципам этики. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО РУДН (протокол №27 от 18.03.2021). Одобрение и процедуру проведения протокола получали по принципам Хельсинкской конвенции.

Ethics approval. The study was approved by the local ethics committee of RUDN University, Moscow, Russia, Protocol 27 of 18.03.2021. The approval and procedure for the protocol were obtained in accordance with the principles of the Helsinki Convention.

Список сокращений

ИЛ - интерлейкин

ИЭ - инфекционный эндокардит

ММП - матриксная металлопротеиназа

НЛИ - нейтрофильно-лимфоцитарный индекс

ТИМП - тканевой ингибитор металлопротеиназ

ФНО-α - фактор некроза опухоли α

Arg-1 - аргиназа 1

iNOS - индуцируемая синтаза оксида азота

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Delgado V, Marsan NA, de Waha S, et al. 2023 ESC Guidelines for the management of endocarditis: Developed by the task force on the management of endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) and the European Association of Nuclear Medicine (EANM). *Eur Heart J*. 2023;ehad193. DOI:10.1093/eurheartj/ehad193
- Котова Е.О., Домонова Э.А., Кобалава Ж.Д., и др. Современные тренды этиологической диагностики инфекционного эндокардита. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2021;17(1):153-64 [Kotova EO, Domonova EA, Kobalava ZD, et al. Modern trends in identification of causative agents in infective endocarditis. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2021;17(1):153-64 (in Russian)]. DOI:10.20996/1819-6446-2021-02-14
- Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004;303:1532-5. DOI:10.1126/science.1092385
- Писарюк А.С., Замарашкина В.А., Сафарова Н.Б., и др. Роль нарушений в системе гемостаза при инфекционном эндокардите: связь с возбудителем, биомаркеры, место антиромботической терапии (систематический обзор). *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2022;18(3):320-31 [Pisaryuk AS, Zamarashkina VA, Safarova NB, et al. Coagulation Disorders in Infective Endocarditis: Role of Pathogens, Biomarkers, Antithrombotic Therapy (Systematic Review). *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2022;18(3):320-31 (in Russian)]. DOI:10.20996/1819-6446-2022-06-14
- Федоров А.А., Ермак Н.А., Герашенко Т.С., и др. Поляризация макрофагов: механизмы, маркеры и факторы индукции. *Сибирский онкологический журнал*. 2022;21(4):124-36 [Fedorov AA, Ermak NA, Gerashchenko TS, et al. Polarization of macrophages: mechanisms, markers and factors of induction. *Siberian Journal of Oncology*. 2022;21(4):124-36 (in Russian)]. DOI:10.21294/1814-4861-2022-21-4-124-136
- Pérez S, Rius-Pérez S. Macrophage Polarization and Reprogramming in Acute Inflammation: A Redox Perspective. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(7):1394. DOI:10.3390/antiox11071394
- Bozza FA, Salluh JJ, Japiassu AM, et al. Cytokine profiles as markers of disease severity in sepsis: a multiplex analysis. *Crit Care*. 2007;11(2):R49. DOI:10.1186/cc5783
- Benoit M, Desnues B, Mege JL. Macrophage polarization in bacterial infections. *J Immunol*. 2008;181(6):3733-9. DOI:10.4049/jimmunol.181.6.3733
- Weinstock M, Grimm I, Dreier J, et al. Genetic Variants in Genes of the Inflammatory Response in Association with Infective Endocarditis. *PLoS One*. 2014;9(10):e110151. DOI:10.1371/journal.pone.0110151
- Тазина С.Я., Федорова Т.А., Семенов Н.А., и др. Диагностическая и прогностическая роль маркеров воспаления и сосудистого эндотелиального фактора роста при инфекционном эндокардите. *Клиническая медицина*. 2017;95(7):618-22 [Tazina SYa, Fedorova TA, Semenenko NA, et al. Diagnostic and prognostic role of markers of inflammation and vascular endothelial growth factor in infective endocarditis. *Clinical Medicine (Russian journal)*. 2017;95(7):618-22 (in Russian)]. DOI:10.18821/0023-2149-2017-95-7-618-622
- Diab M, Tasar R, Sponholz C, et al. Changes in inflammatory and vasoactive mediator profiles during valvular surgery with or without infective endocarditis: A case control pilot study. *PLoS One*. 2020;151(2):e0228286. DOI:10.1371/journal.pone.0228286
- Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res*. 2001;29(9):e45. DOI:10.1093/nar/29.9.e45
- Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol*. 2002;3(7):research0034. DOI:10.1186/gb-2002-3-7-research0034
- Chen X, Liu Y, Gao Y, et al. The roles of macrophage polarization in the host immune response to sepsis. *Int Immunopharmacol*. 2021;96:107791. DOI:10.1016/j.intimp.2021.107791
- Artemova D, Vishnyakova P, Fomina M, et al. Polarized Macrophages As Potential Anti-Endometrioid agent. *FASEB J*. 2022;36(S1):0506. DOI:10.1096/fasebj.2022.36.S1.0R506
- Vishnyakova P, Poltavets A, Karpulevich E, et al. The response of two polar monocyte subsets to inflammation. *Biomed Pharmacother*. 2021;139:111614. DOI:10.1016/j.biopha.2021.111614
- Qiu P, Liu Y, Zhang J. Review: the Role and Mechanisms of Macrophage Autophagy in Sepsis. *Inflammation*. 2019;42(1):6-19. DOI:10.1007/s10753-018-0890-8
- Rawczynska-Englert I, Hryniewiecki T, Dzierzanowska D. Evaluation of serum cytokine concentrations in patients with infective endocarditis. *J Heart Valve Dis*. 2000;9(5):705-9.
- Watkin RW, Harper LV, Vernallis AB, et al. Pro-inflammatory cytokines IL 6, TNF-alpha, IL 1beta, procalcitonin, lipopolysaccharide binding protein and C-reactive protein in infective endocarditis. *J Infect*. 2007;55(3):220-5. DOI:10.1016/j.jinf.2007.05.174
- 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):1400-4. DOI:10.1016/s0002-9149(02)02353-6
- Christiansen JG, Jensen HE, Jensen LK, et al. Systemic inflammatory response and local cytokine expression in porcine models of endocarditis. *APMIS*. 2014;122:292-300. DOI:10.1111/apm.12145

Статья поступила в редакцию / The article received: 10.10.2023



OMNIDOCTOR.RU