

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ VEGF ПРИ ОСЛОЖНЕННОМ ИНФЕКЦИОННОМ ЭНДОКАРДИТЕ

Е.С. Самойленко^{1,2}, Н.В. Колесникова¹, В.И. Баклай³, Е.Ю. Майданникова²,
Е.В. Омельченко²

¹ Кубанский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Краснодар, Россия

² ГБУЗ Научно-исследовательский институт — Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского Министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар, Россия

³ ГБУЗ Специализированная клиническая инфекционная больница Министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар, Россия

Резюме. Введение. Инфекционный эндокардит (ИЭ) является заболеванием бактериальной природы с частой локализацией патогена на клапанном аппарате сердца, отличается быстрым развитием сердечной недостаточности и частыми тромбоэмболическими осложнениями (ТЭО). Особенности ИЭ обусловлены чужеродностью патогена и состоянием иммунной системы (ИС) человека. Дисбаланс ИС при инфекционном эндокардите проявляется нарушением цитокин-опосредованных взаимодействий, что подтверждает рациональность их изучения для углубления понимания патогенеза различных состояний. Для большинства генов цитокинов характерен полиморфизм и наличие изоформ, обуславливающих развитие предрасположенности к заболеванию. При этом генетический полиморфизм фактора роста эндотелия сосудов — А (Vascular endothelial growth factor A — VEGF-A), играющего важную роль в индукции васкуло- и ангиогенеза, и его патогенетическая роль при ИЭ изучены недостаточно. Цель исследования — анализ полиморфных вариантов нуклеотидной последовательности гена фактора роста эндотелия сосудов с учетом связи с его сывороточной концентрацией у пациентов с инфекционным эндокардитом. **Материалы и методы.** 86 пациентов, проходивших лечение по поводу установленного диагноза ИЭ в ГБУЗ «НИИ-ККБ № 1» г. Краснодара были разделены на две клинические группы в соответствии с характером течения ИЭ: Группа 1 — ИЭ с ТЭО (n = 44), группа 2 — ИЭ без ТЭО (n = 42), а контрольную группу составляли 20 относительно здоровых лиц. Концентрация VEGF-A (пг/мл) в сыворотке крови была определена в первый день поступления в стационар методом иммуноферментного анализа, а геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной крови, использовалась для определения частоты генотипов полиморфных вариантов гена VEGF. **Результаты.** Выявлены статистически значимые различия в распределении частот генотипов VEGF-rs2010963 между пациентами с инфекционным эндокардитом и контрольной группой: G/G (OR = 0,25; p = 0,012) и G/C (OR = 4,28; p = 0,022), а также различия между концентрациями VEGF по различным генотипам SNP-rs2010963 (p = 0,0001). Исследование распределения частот генотипов VEGF между пациентами клинических групп показало статистически значимое снижение частоты генотипа G/G (rs2010963) в группе ИЭ с ТЭО (OR = 0,21; p = 0,014) и повышение частоты G/C (OR = 4,72; p = 0,024) по сравнению с контрольной группой, тогда как у пациентов с ИЭ без ТЭО обнаружены статистически

Адрес для переписки:

Самойленко Екатерина Сергеевна
350063, Россия, г. Краснодар, ул. им. Митрофана Седина, 4,
Кубанский государственный медицинский университет.
Тел.: 8 (918) 969-71-42.
E-mail: kondrenko.ekaterina@yandex.ru

Contacts:

Ekaterina S. Samoylenko
350063, Russian Federation, Krasnodar, Mitrofan Sedina str., 4,
Kuban State Medical University.
Phone: +7 (918) 969-71-42.
E-mail: kondrenko.ekaterina@yandex.ru

Для цитирования:

Самойленко Е.С., Колесникова Н.В., Баклай В.И., Майданникова Е.Ю., Омельченко Е.В. Полиморфизм генов VEGF при осложненном инфекционном эндокардите // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 5. С. 938–946. doi: 10.15789/2220-7619-VGP-1877

Citation:

Samoylenko E.S., Kolesnikova N.V., Baklay V.I., Maydannikova E.Yu., Omelchenko E.V. VEGF gene polymorphism in complicated infective endocarditis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 5, pp. 938–946. doi: 10.15789/2220-7619-VGP-1877

значимые ($p = 0,0003$) различия сывороточных концентраций VEGF-rs2010963 в соответствии с генотипами GG/CC ($p = 0,01$) и GG/GC ($p = 0,003$). **Выводы.** Выявлена связь между генотипами (G/G и G/C полиморфизма rs2010963) VEGF и его сывороточной концентрацией среди пациентов с ИЭ. Носители минорного аллеля С (rs2010963) имели более высокие уровни VEGF в сыворотке крови. Полученные результаты дополняют и систематизируют современные научные данные о патогенезе заболевания, а также акцентируют внимание на генетическую детерминанту развития осложнений.

Ключевые слова: инфекционный эндокардит, VEGF, SNP, патогенез, диагностика, тромбоземболические осложнения.

VEGF GENE POLYMORPHISM IN COMPLICATED INFECTIVE ENDOCARDITIS

Samoylenko E.S.^{a,b}, Kolesnikova N.V.^a, Baklay V.I.^c, Maydannikova E.Yu.^b, Omelchenko E.V.^b

^a Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

^b Scientific Research Institute — Ochapovsky Regional Clinical Hospital No. 1, Krasnodar, Russian Federation

^c Specialized Clinical Infectious Diseases Hospital, Krasnodar, Russian Federation

Abstract. Introduction. Infective endocarditis (IE) is a bacterial disease with frequent pathogen localization on the heart valve apparatus. IE is characterized by rapid development of heart failure and frequent thromboembolic complications (TEC). IE features are accounted for by foreign pathogen nature and state of human immune system (IS). The imbalanced IS in infective endocarditis is manifested by impaired cytokine-mediated interactions. This confirms the rationality of studying cytokines to advance understanding of the pathogenesis for various conditions. Most cytokine genes are characterized by polymorphism and existing isoforms underlying disease predisposition. Genetic polymorphism of vascular endothelial growth factor — A (VEGF-A) plays an important role in the induction of vasculogenesis and angiogenesis. The pathogenetic VEGF role in IE has not been thoroughly studied. Research objective — analysis of polymorphic nucleotide sequence variants in the vascular endothelial growth factor gene, taking into account a relation with its serum concentration in patients with infective endocarditis. **Materials and methods.** 86 patients treated with verified diagnosis of infective endocarditis at the Scientific Research Institute — “Regional Clinical Hospital No. 1” of Krasnodar were divided into two clinical groups in accordance with the IE course: Group 1 — IE with TEC ($n = 44$), group 2 — IE without TEC ($n = 42$), and the control group consisted of 20 apparently healthy individuals. The concentration of serum VEGF-A (pg/mL) was measured by ELISA on day 1 of hospitalization. Genomic DNA was isolated from whole blood leukocytes and used to determine the frequency of genotypes of VEGF gene polymorphic variants. **Results.** Significant differences in the frequency distribution of VEGF-rs2010963 genotypes between patients with infective endocarditis and control group were revealed: G/G (OR = 0.25; $p = 0.012$) and G/C (OR = 4.28; $p = 0.022$), as well as differences between VEGF concentrations for various SNP-rs2010963 genotypes ($p = 0.0001$). A study of VEGF genotype frequency distribution between patients of clinical groups showed a significantly decreased frequency of the genotype G/G (rs2010963) in the IE group with TEC (OR = 0.21; $p = 0.014$) and increased frequency of G/C (OR = 4.72; $p = 0.024$) compared with the control group, whereas in patients with IE without TEC, significant ($p = 0.0003$) differences in serum concentrations of VEGF-rs2010963 were found in accordance with genotypes GG/CC ($p = 0.01$) and GG/GC ($p = 0.003$). **Conclusion.** The relationship between the VEGF genotypes (G/G and G/C of rs2010963 polymorphism) and related serum concentration among patients with IE was revealed. Carriers of the minor C allele (rs2010963) had higher serum VEGF levels. The results obtained complement and systematize current scientific data on the disease pathogenesis, as well as focus on the genetic determinant of the developing complications.

Key words: infective endocarditis, VEGF, SNP, pathogenesis, diagnosis, thromboembolic complications.

Введение

Инфекционный эндокардит (ИЭ) является заболеванием бактериального происхождения, при котором возбудитель размещается на клапанном аппарате сердца и эндокарде, и характеризуется быстрым развитием сердечной недостаточности и частыми системными эмболическими осложнениями. Особенности формирования и течения инфекционного процесса обусловлены как чужеродностью возбудителя, так и состоянием иммунной системы (ИС) индивидуума [14, 18], дисбаланс которой при инфекционном процессе выражается нарушением

межклеточных цитокин-опосредованных контактов [6], что оправдывает целесообразность их изучения для углубления знаний основ патогенеза различных состояний. Известно, для генов многих цитокинов характерен полиморфизм и присутствие изоформ как свойство, способное изменять направленность иммунного ответа и приводить к развитию предрасположенности к различным вариантам течения заболевания [5]. Хорошо изученной группой таких генетических вариантов являются однонуклеотидные замены (SNP), которые представляют значительный интерес как возможные предиктивные факторы [25]. Поэтому

исследование генов, влияющих на активность цитокинов, является одной из главных задач в изучении патогенеза как инициации, так и течения ИЭ, а также выявления предрасположенности к нему. Тромбоэмболические осложнения (ТЭО) — одна из наиболее частых причин смерти пациентов с ИЭ, их выраженность напрямую связана с клиническим вариантом течения заболевания [11]. В современной модели патофизиологии клеточной адгезии при формировании ИЭ первостепенную роль играют деструктивные и некробиотические изменения эндотелиальных клеток (ЭК), контролирующих гомеостаз и сосудисто-тканевую проницаемость [9].

Наиболее значимым цитокиновым фактором ангиогенеза является фактор роста эндотелия сосудов — А (Vascular endothelial growth factor A — VEGF-A) как ключевая молекула индукции васкуло- и ангиогенеза [19] и важнейший регулятор физиологического и патологического усиления роста сосудов за счет прямого митогенного действия на эндотелий [17]. Потребность дополнительного синтеза VEGF-A активированными клетками ИС при ИЭ необходима для усиления роста сосудов [10] и питания поврежденных тканей как эндокарда, так и других систем при ТЭО [21]. VEGF-A кодируется геном, который расположен на хромосоме 6p21.3, однако роль генов цитокина и его сывороточная концентрация при ИЭ изучены недостаточно.

В этой связи целью настоящего исследования был анализ полиморфных вариантов нуклеотидной последовательности гена фактора роста эндотелия сосудов с учетом связи с его сывороточной концентрацией у пациентов с ИЭ.

Материалы и методы

В исследование было включено 86 пациентов, находившихся в ГБУЗ «НИИ-ККБ № 1» г. Краснодара в связи с установленным диагнозом ИЭ. В соответствии с наличием/отсутствием тромбоэмболических осложнений, все исследуемые были разделены на 2 клинические группы: группа 1 — ИЭ с ТЭО ($n = 44$) и группа 2 — ИЭ без ТЭО ($n = 42$), а контрольную группу составили 20 условно здоровых лиц. Исследование проведено с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности (участниками исследования подписано информированное согласие и получена полная информация относительно целей, хода и содержания исследования) и одобрено Независимым Этическим Комитетом ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России от 27.09.2019 г., протокол № 80.

Все группы были сопоставимы по возрасту (пациенты с ИЭ — 52 ± 10 лет, условно-здоровые

лица — 53 ± 10 лет), сопутствующей патологии, этиологическому фактору эндокардита и локализации бактерии (клапанная локализация). Критериями исключения являлись: отсутствие письменного согласия на исследование, хронические инфекционно-воспалительные состояния, аутоиммунная патология, сопутствующие острые состояния, аллергические реакции в острой фазе, беременность, возраст < 18 лет или > 70 лет.

Проведено иммунологическое и молекулярно-биологическое обследование образцов биологического материала (венозная кровь). Определение сывороточной концентрации VEGF-A осуществляли в первый день поступления пациентов в стационар методом иммуноферментного анализа с помощью набора реагентов для VEGF-A (Вектор-БЕСТ, Россия) с использованием соответствующего оборудования — Multiscan FC (Thermo Scientific, Финляндия), Shaker-Thermostat ST-3L (ELMI, Латвия), HydroFlex (Tecan, Австрия).

Выделение геномной ДНК из лейкоцитов цельной крови производили с использованием реагента «ДНК-ЭКСПРЕСС-кровь» (ООО НПФ «Литех», Россия). Определение SNPs генов VEGF проводили с помощью наборов реагентов для определения полиморфизма C/A гена VEGF-A (rs2146323), полиморфизма C2578A гена VEGF-A (rs699947), полиморфизма C936T гена VEGF (rs3025039), полиморфизма G634C гена VEGF-A (rs2010963) (Синтол, Россия) и соответствующего оборудования — амплификатора CFX96 Real-Time (США), термостата «Гном» (Россия), центрифуги Eppendorf MiniSpin (Германия), вортекса Microspin FV-2400 (Латвия).

Статистическую обработку результатов осуществляли посредством программного обеспечения IBM SPSS Statistics (версия 26). Нормальность распределения признаков проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Описательная статистика представлена медианой и интерквартильным размахом — Me (C_{25} – C_{75}). Независимые клинические группы сравнивали критерием U (Манна–Уитни) — если их две; и критерием H (Краскела–Уоллиса) — более 2-х групп. Использовали поправку Бонферрони для расчета скорректированного значения вероятности p . Генотипы SNP тестировали на отклонение от равновесия Харди–Вайнберга ($p > 0,05$). Достоверность различий частот генотипов определяли по двустороннему точному критерию Фишера. Проведен логистический регрессионный анализ для определения отношения шансов OR (Odds Ratio) с расчетом 95% доверительного интервала CI (Confidence Interval). Пороговый уровень критической значимости — значение вероятности (p) $< 0,05$.

Результаты

Как иммунологическое, так и молекулярно-генетическое исследование проводилось в первые дни поступления пациентов в стационар, после установления точного диагноза — «Инфекционный эндокардит» — в соответствии с диагностическими критериями Duke [12]. Охарактеризованное нами распределение частот генотипов VEGF относительно контрольной группы соответствует распределению частоты в европеоидных популяциях. Для более точных данных были рассчитаны

собственные ожидаемые частоты в соответствии с законом Харди–Вайнберга. Таким образом распределение наблюдаемых частот как в контрольной, так и в клинических группах находится в равновесии Харди–Вайнберга.

Исследованиями выявлены статистически значимые различия распределения частот VEGF-rs2010963 между пациентами с ИЭ и группой относительно здоровых лиц по генотипам G/G (OR = 0,25; p = 0,012) и G/C (OR = 4,28; p = 0,022), тогда как исследование генотипа C/C (rs2010963) указывает на отсутствие межгрупповых различий (табл. 1).

Таблица 1. Распределение частот генотипов VEGF среди пациентов с ИЭ и в контрольной группе

Table 1. Distribution of VEGF genotype frequencies among patients with IE and control group

SNP, VEGF	Пациенты с ИЭ Patients with IE	Группа контроля Control group	OR (95% CI)	p
rs699947	n = 86	n = 20		
C/C	n = 24 (28%)	n = 9 (45%)	0,17 < 0,47 < 1,28	0,180
C/A	n = 37 (43%)	n = 6 (30%)	0,62 < 1,76 < 5,02	0,323
A/A	n = 25 (29%)	n = 5 (25%)	0,4 < 1,23 < 3,75	0,790
rs2010963	n = 86	n = 20		
G/G	n = 37 (43%)	n = 15 (75%)	0,08 < 0,25 < 0,76	0,012*
G/C	n = 37 (43%)	n = 3 (15%)	1,17 < 4,28 < 15,69	0,022*
C/C	n = 12 (14%)	n = 2 (10%)	0,3 < 1,46 < 7,11	0,999
rs2146323	n = 86	n = 20		
C/C	n = 32 (37%)	n = 11 (55%)	0,18 < 0,48 < 1,3	0,205
C/A	n = 28 (33%)	n = 6 (30%)	0,39 < 1,13 < 3,24	0,999
A/A	n = 26 (30%)	n = 3 (15%)	0,66 < 2,46 < 9,11	0,264
rs3025039	n = 85	n = 20		
C/C	n = 62 (72,9%)	n = 15 (75%)	0,35 < 1,08 < 3,35	0,999
C/T	n = 20 (23,5%)	n = 4 (20%)	0,37 < 1,23 < 4,11	0,999
T/T	n = 3 (3,5%)	n = 1 (5%)	0,07 < 0,7 < 7,06	0,576

Примечание. p — точный критерий Фишера; * — значимые отличия между группами, p < 0,05; OR — отношение шансов; CI — доверительный интервал.

Note. p — Fisher's exact criterion; * — significant inter-group differences, p < 0.05; OR — odds ratio; CI — confidence interval.

Таблица 2. Сывороточные уровни концентрации VEGF в соответствии с вариантами генотипа среди пациентов с ИЭ

Table 2. Serum VEGF levels according to genotype variants among patients with IE

SNP, VEGF	Пациенты с инфекционным эндокардитом, пг/мл Patients with infectious endocarditis, pg/mL			p
rs699947 n = 86	C/C (n = 24)	C/A (n = 37)	A/A (n = 25)	0,141
	809,88 (445,66–1041,53)	612,5 (228,76–1062,13)	319,28 (111,01–1012,5)	
rs2010963 n = 86	G/G (n = 37)	G/C (n = 37)	C/C (n = 12)	0,0001*
	201,37 (77,58–764,69)	785,37 (484,87–1131,15)	926,04 (574,78–1041,53)	
	Поправка Бонферрони Bonferroni correction			
	p (GG-CC) = 0,016*	p (GC-GG) = 0,001*	p (CC-GC) = 1	
rs2146323 n = 86	C/C (n = 32)	C/A (n = 28)	A/A (n = 26)	0,288
	701,29 (192,61–1001,05)	403,37 (145,35–1041,53)	722,76 (329,87–1105,80)	
rs3025039 n = 85	C/C (n = 62)	C/T (n = 20)	T/T (n = 3)	0,161
	762,69 (269,91–1085,83)	293,35 (177,82–904,15)	562,62 (175,46–577,48)	

Примечание. p — критерий Краскела–Уоллиса; * — значимые отличия между группами, p < 0,05. Результаты концентрации VEGF представлены в виде Me (C₂₅–C₇₅).

Note. p — Kruskal–Wallis test; * — significant inter-group differences, p < 0.05. VEGF concentration results presented as Me (C₂₅–C₇₅).

Распределение генотипов по остальным SNP (rs699947, rs2146323 и rs3025039) также не выявило достоверных различий между группами.

Что касается концентраций VEGF (пг/мл) в сыворотке крови среди пациентов с ИЭ и ее распределения по соответствующим генотипам (табл. 2), то статистически значимое различие наблюдалось между концентрациями цитокина по SNP-rs2010963, по критерию Краскела–Уоллиса — межгруппового дисперсионного анализа, $p = 0,0001$.

Для выяснения результатов множественного сравнения, а именно, какие генотипы по rs2010963 дают значимую разницу, использовали поправку Бонферрони. Анализ полученных данных указал на весомую разницу в концентрациях цитокина между генотипами GG/GC ($p = 0,001$) и GG/CC ($p = 0,016$) по rs2010963. Распределение концентраций между генотипа-

ми по остальным трем SNP не показало достоверной разницы ни в одном из случаев.

При анализе распределения частот генотипов различных SNP VEGF между пациентами клинических групп (ИЭ с ТЭО и ИЭ без ТЭО) с группой контроля (табл. 3), выявлено статистически значимое снижение частоты генотипа G/G (rs2010963) в группе ИЭ с ТЭО по сравнению с частотой G/G в контрольной группе (OR = 0,21; $p = 0,014$). При этом также обнаружено статистически значимое повышение частоты генотипа G/C того же SNP в группе ИЭ с ТЭО по сравнению с частотой G/C в контрольной группе (OR = 4,72; $p = 0,024$), тогда как достоверных различий среди других SNP не наблюдалось.

Следует отметить, что некоторые явно завышенные значения — для rs3025039 генотип T/T (OR = 2 при сравнении групп ИЭ с ТЭО/ИЭ без ТЭО) или rs2146323 генотип A/A (OR = 3,57

Таблица 3. Распределение частот генотипов VEGF среди пациентов с ИЭ разных клинических групп и контрольной группой

Table 3. Frequency distribution of VEGF genotypes among IE patients in diverse clinical groups and controls

VEGF, SNP	ИЭ с ТЭО IE with TEC	ИЭ без ТЭО IE without TEC	Контроль Control	ИЭ с ТЭО/ ИЭ без ТЭО IE with TEC/IE without TEC OR (95% CI)	ИЭ с ТЭО/ контроль IE with TEC/Control OR (95% CI)	ИЭ без ТЭО/ контроль IE without TEC/Control OR (95% CI)
rs699947	n = 44	n = 42	n = 20			
C/C	13 (29%)	11 (26%)	9 (45%)	0,46 < 1,18 < 3,04 $p = 0,812$	0,17 < 0,51 < 1,53 $p = 0,264$	0,14 < 0,43 < 1,33 $p = 0,157$
C/A	17 (39%)	20 (48%)	6 (30%)	0,29 < 0,69 < 1,63 $p = 0,513$	0,47 < 1,47 < 4,56 $p = 0,582$	0,68 < 2,12 < 6,58 $p = 0,271$
A/A	14 (32%)	11 (26%)	5 (25%)	0,52 < 1,32 < 3,35 $p = 0,638$	0,42 < 1,4 < 4,62 $p = 0,769$	0,31 < 1,06 < 3,62 $p = 1$
rs2010963	n = 44	n = 42	n = 20			
G/G	17 (39%)	20 (48%)	15 (75%)	0,29 < 0,69 < 1,63 $p = 0,513$	0,06 < 0,21 < 0,68 $p = 0,014^*$	0,09 < 0,3 < 0,99 $p = 0,056$
G/C	20 (45%)	17 (40%)	3 (15%)	0,52 < 1,23 < 2,88 $p = 0,668$	1,21 < 4,72 < 18,46 $p = 0,024^*$	0,98 < 3,85 < 15,2 $p = 0,079$
C/C	7 (16%)	5 (12%)	2 (10%)	0,42 < 1,44 < 4,95 $p = 0,756$	0,33 < 1,75 < 9,3 $p = 0,706$	0,21 < 1,22 < 6,89 $p = 1$
rs2146323	n = 44	n = 42	n = 20			
C/C	13 (29%)	19 (45%)	11 (55%)	0,21 < 0,51 < 1,23 $p = 0,180$	0,11 < 0,34 < 1,02 $p = 0,093$	0,23 < 0,68 < 1,97 $p = 0,588$
C/A	14 (32%)	14 (33%)	6 (30%)	0,38 < 0,93 < 2,3 $p = 0,999$	0,35 < 1,09 < 3,43 $p = 0,999$	0,37 < 1,17 < 3,69 $p = 1$
A/A	17 (39%)	9 (22%)	3 (15%)	0,89 < 2,31 < 6 $p = 0,102$	0,91 < 3,57 < 14,03 $p = 0,082$	0,37 < 1,55 < 6,47 $p = 0,735$
rs3025039	n = 43	n = 42	n = 20			
C/C	31 (72%)	31 (74%)	15 (75%)	0,35 < 0,92 < 2,39 $p = 0,999$	0,26 < 0,86 < 2,89 $p = 1$	0,28 < 0,94 < 3,19 $p = 1$
C/T	10 (23%)	10 (24%)	4 (20%)	0,36 < 0,97 < 2,64 $p = 0,999$	0,33 < 1,21 < 4,47 $p = 1$	0,34 < 1,25 < 4,61 $p = 1$
T/T	2 (5%)	1 (2%)	1 (5%)	0,17 < 2 < 22,93 $p = 1$	0,08 < 0,93 < 10,86 $p = 1$	0,03 < 0,46 < 7,81 $p = 0,544$

Примечание. p — точный критерий Фишера; * — значимые отличия между группами, $p < 0,05$; OR — отношение шансов; CI — доверительный интервал.

Note. p — Fisher's exact criterion; * — significant inter-group differences, $p < 0,05$; OR — odds ratio; CI — confidence interval.

при сравнении групп ИЭ с ТЭО/контроль), обусловлены недостаточным числом лиц в клинических группах и для их уточнения необходимы дополнительные исследования.

При этом есть тенденция к значимости различий, но она не оказалась достаточной в пределах выбранного уровня вероятности ($p < 0,05$). Это касается SNP — rs2010963 генотипов G/G (OR = 0,3; $p = 0,056$) и G/C (OR = 3,85; $p = 0,079$) между группой ИЭ без ТЭО и контролем. Отметим полиморфизм rs2146323, его генотипы C/C (OR = 0,34; $p = 0,093$) и A/A (OR = 3,57; $p = 0,082$) между группой ИЭ с ТЭО и группой условно здоровых лиц, где также видна тенденция к значимости различий, но ограничена выбранным уровнем значимости ($p < 0,05$).

Анализ уровней сывороточных концентраций разных SNP-VEGF (пг/мл) в соответствии с вариантами генотипов среди пациентов с осложненным и неосложненным течением ИЭ продемонстрировал отсутствие взаимосвязи между генотипами и концентрацией VEGF в 1 группе (ИЭ с ТЭО) ни по одному из исследованных SNP-VEGF (табл. 4). Между тем в клинической группе с неосложненным течением ИЭ обнаружены статистически значимые различия по rs2010963 между различными генотипами ($p = 0,0003$),

и коррекция на множественные сравнения указала достоверную разницу этой группы по генотипам: GG/CC ($p = 0,01$) и GG/GC ($p = 0,003$)

Анализ связи между частотой генотипов rs2010963 и концентрацией сывороточного уровня VEGF в клинических группах показал, что во 2-й группе (ИЭ без ТЭО) частота генотипа G/G с концентрацией VEGF 152,42 (44,09–411,33) пг/мл была в 6 раз ниже концентрации VEGF по генотипу C/C 913,59 (591,87–1387,6) пг/мл, и в 5,1 раз ниже по генотипу G/C, 785,37 (444,1–991,9) пг/мл. Между тем в 1-й группе (ИЭ с ТЭО) значимых различий концентрации по генотипам выявлено не было.

Наряду с этим выявлены тенденции к снижению концентрации VEGF в связи с аллелем T по rs3025039 генотип C/C 762,69 (269,91–1085,83) пг/мл против C/T 293,35 (177,82–904,15) пг/мл и T/T 562,62 (175,46–577,48) пг/мл, а также при сравнении генотипов SNP rs3025039 в подгруппах ИЭ с/без ТЭО.

Обсуждение

ИЭ, как и многие другие состояния, является воспалительным процессом и сопровождается гипоксией тканей, что является сильнейшим

Таблица 4. Сывороточные уровни концентрации VEGF в соответствии с вариантами генотипа среди пациентов с ИЭ разных клинических групп

Table 4. Serum VEGF levels according to genotype variants among IE patients of different clinical groups

SNP, VEGF	Пациенты, ИЭ с ТЭО, пг/мл Patients, IE with TEC, pg/mL			p
	C/C (n = 13)	C/A (n = 17)	A/A (n = 14)	
rs699947 n = 44	1012,17 (692,18–1188,44)	693,63 (356,8–1154,19)	517,51 (189,97–1088,38)	0,310
rs2010963 n = 44	G/G (n = 17) 495,75 (165,63–1094,2)	G/C (n = 20) 881,51 (438,57–1161,6)	C/C (n = 7) 938,5 (508,89–1042,48)	0,177
rs2146323 n = 44	C/C (n = 13) 938,5 (451,33–1191,29)	C/A (n = 14) 733,05 (283,59–1058,32)	A/A (n = 17) 577,48 (326,34–1182,93)	0,854
rs3025039 n = 43	C/C (n = 31) 938,5 (508,89–1109,83)	C/T (n = 10) 349,74 (197,72–1284,48)	T/T (n = 2) –	0,410
Пациенты, ИЭ без ТЭО, пг/мл Patients, IE without TEC, pg/mL				
rs699947 n = 42	C/C (n = 11) 785,37 (186,27–913,59)	C/A (n = 20) 536,13 (177,82–957,72)	A/A (n = 11) 251,49 (3,5–797,58)	0,294
rs2010963 n = 42	G/G (n = 20) 152,42 (44,09–411,33)	G/C (n = 17) 785,37 (444,1–991,9)	C/C (n = 5) 913,59 (591,87–1387,6)	0,0003*
	Поправка Бонферрони Bonferroni correction			
	p(GG-CC)=0,01*	p(GC-GG)=0,003*	p(CC-GC)=1	
rs2146323 n = 42	C/C (n = 19) 612,5 (169,93–819,77)	C/A (n = 14) 196,27 (71,95–872,09)	A/A (n = 9) 795,23 (419,16–991,9)	0,129
rs3025039 n = 42	C/C (n = 31) 643,57 (138,29–973,93)	C/T (n = 10) 237,1 (154,08–714,88)	T/T (n = 1) –	0,273

Примечание. p — критерий Краскела–Уоллиса (использовался при сравнении 3-х признаков), критерий Манна–Уитни (использовался при сравнении 2-х признаков); * — значимые отличия между группами, $p < 0,05$. Результаты концентрации VEGF представлены в виде Me ($C_{25}–C_{75}$).
Note. p — Kruskal–Wallis criterion (used to compare 3 signs), Mann–Whitney criterion (used to compare 2 signs); * — significant inter-group differences, $p < 0.05$. VEGF concentration results presented as Me ($C_{25}–C_{75}$).

стимулом, вызывающим секрецию VEGF [19]. Поскольку развитие и прогрессирование эндокардита, как и многих заболеваний инфекционной природы, является результатом взаимодействия генетического аппарата с факторами внешнего воздействия, прогностическая значимость единичного полиморфизма крайне мала [23]. И тем не менее существуют исследования, которые указывают на связь SNP генов VEGF, его сывороточного уровня и риска тяжести состояния пациента [8, 20], а увеличение числа генотипов цитокинов и факторов роста в составе сложных генетических комплексов у одного пациента значительно повышает клиническую значимость результата иммуногенетического исследования [3].

Так, среди исследуемых нами полиморфных вариантов гена VEGF, особый интерес вызвал полиморфизм rs2010963, показана связь генотипов с ИЭ, в том числе с осложненным его течением. В современной литературе имеются работы, устанавливающие связь SNP с риском выявления нарушений сердечно-сосудистого аппарата. Так, Vannay A. и соавт. (2006) в своем исследовании акцентируют внимание на аллель +405C VEGF, который указывал на значимую распространенность в группе пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) ($p < 0,001$) и повышенный риск в отношении данного состояния (OR = 1,72; доверительный интервал — 95%) [22].

Другие работы указывают на связь генотипов с более низкой экспрессией VEGF (rs2010963) и с более высоким риском дефекта межжелудочковой перегородки (ДМЖП), а именно: аллель -634C находится в значительной протективной связи против ДМЖП, что свидетельствует о нарушении регуляции VEGF в патологических процессах данного заболевания [24].

В своем исследовании Lambrechts D. и соавт. (2005) при генотипировании 148 лиц с изолированным, несиндромальным ТОФ (тетрада Фалло) обнаружили повышенный риск развития заболевания при наличии полиморфных вариантов в промоторе VEGF (rs699947 и rs1570360) и лидерной последовательности (rs2010963), которые снижали уровни VEGF [16]. Для ИЭ полиморфизм rs699947 не оказался значим в нашем исследовании.

Анализ результатов оценки сывороточного уровня концентрации VEGF у пациентов с ИЭ позволил обнаружить значимые отличия по вариантам генотипов полиморфизма rs2010963. Стоит отметить, что присутствие минорного аллеля С указывало на более высокие уровни цитокина в крови. Так, медиана генотипа G/G = 201,37 пг/мл; генотипа G/C = 785,37 пг/мл; генотипа C/C = 926,04 пг/мл. Это находит свое подтверждение в исследованиях Awata T.

и соавт. (2002), указывающих на связь генотипа C/C rs2010963 с более высоким сывороточным уровнем VEGF и может свидетельствовать об усилении синтеза VEGF. Авторы отмечают более высокие уровни VEGF в сыворотке крови у лиц с генотипом CC полиморфизма rs2010963, чем у субъектов с другими генотипами ($p = 0,021$) [7].

Исследованием установлено отсутствие связи ИЭ с однонуклеотидными заменами rs699947, rs2146323 и rs3025039. Важно отметить, что немногочисленные данные по полиморфным вариантам гена VEGF и его связи с кардиоваскулярной патологией свидетельствуют об их противоречивости. Так по мнению одних авторов полиморфизм rs699947 связан с риском ишемической болезни сердца [8, 13]. Группу наблюдения составили 175 пациентов с подтвержденной ИБС, в которой наблюдали более высокие частоты генотипа VEGF 2578AA — rs699947 ($p = 0,008$), что также указывало на тяжесть заболевания [8]. Другое исследование также указывает на связь генотипа VEGF -2578CC с более высокой экспрессией фактора роста эндотелия сосудов. Авторы согласовывают эти результаты с защитным эффектом VEGF при развитии атеросклероза [13]. При этом другие исследования связывают риск ИБС с полиморфизмом VEGF rs3025039, и свидетельствуют об отсутствии связи VEGF rs699947 и ИБС. Авторы отмечают высокую частоту аллеля С и генотипа CC в положении +936 гена VEGF (rs3025039) у больных ИБС, которая оказалась значимо выше, чем у пациентов без данного заболевания ($p = 0,02$) [2].

Между тем, выявленная нами тенденция к снижению сывороточной концентрации VEGF в связи с аллелем Т по полиморфизму rs3025039 коррелирует с данными других исследователей, свидетельствующими о связи аллеля Т (rs3025039) с более низким уровнем белка в сыворотке крови [15].

Уникальность молекулярных исследований состоит в учете особенностей конкретного пациента, а профилактическая составляющая включает получение информации о геноме индивидуума еще до болезни, что может предотвратить развитие патологического состояния [1].

Между тем частая противоречивость данных о патогенетической роли SNP при сердечно-сосудистых патологиях и заболеваниях инфекционной природы может быть обусловлена недостаточной по объему выборкой пациентов, влиянием множества других генов и факторов внешней среды на фенотип, эпигенетику, как и недостаточное представление о паттернах вариации в геноме человека. При этом полиморфные варианты в генах воспалительных факторов ИС могут

приводить к неадекватной активации иммунновоспалительной системы при внедрении микроорганизма [4].

Заключение

Таким образом, анализ полученных данных в настоящем исследовании позволил выявить связь между генотипами VEGF и его сывороточными уровнями у пациентов с ИЭ, а именно: генотипы G/G и G/C полиморфизма rs2010963 показали статистически значимое отличие не только в распределении частот у пациентов с ИЭ и контрольной группой ($p = 0,012$ и $p = 0,022$ соответственно), а также среди клинических групп (ИЭ с ТЭО, $p = 0,014$ и $p = 0,024$), но и выявили связь с более высокой плазменной концентрацией VEGF носителей минорного аллеля С, которая прослеживается как на уровне основной группы пациентов с ИЭ (медианы G/G — 201,37 пг/мл против

G/C — 785,37 и С/С — 926,04), так и в клинических группах ИЭ с ТЭО (G/G — 201,37 пг/мл против G/C — 785,37 и С/С — 926,04) и ИЭ без ТЭО (G/G — 152,42 пг/мл против G/C — 785,37 и С/С — 913,59).

Таким образом, с точки зрения актуальности изучения и внедрения в практику дополнительных иммуногенетических критериев лабораторной диагностики ИЭ, представляет интерес анализ и систематизация современных научных сведений о полиморфизме генов цитокинов, ассоциированных с данным заболеванием. Проведенное исследование подтверждает наличие связи ИЭ с полиморфными вариантами гена VEGF rs2010963, а также частоты генотипов — с сывороточным уровнем цитокина. Таким образом, оценка полиморфизма гена VEGF rs2010963 и сывороточный уровень соответствующего цитокина у пациентов с ИЭ обоснована и целесообразна с целью диагностики и профилактики заболевания.

Список литературы/References

1. Будчанов Ю.И., Делягин В.М. Генетика бронхиальной астмы // Практическая медицина. 2010. Т. 6, № 45. С. 19–21. [Budchanov Y.I., Delyagin V.M. Genetics of bronchial asthma. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine*, 2010, vol. 6, no. 45, pp. 19–21. (In Russ.)]
2. Климонтов В.В., Шевченко А.В., Тянь Н.В., Булумбаева Д.М., Прокофьев В.Ф., Коненков В.И. Полиморфизмы генов цитокинов и матриксных металлопротеиназ, ассоциированные с ишемической болезнью сердца, у больных сахарным диабетом 2-го типа // Кардиология. 2017. Т. 57, № 8. С. 5–10. [Klimontov V.V., Shevchenko A.V., Tyan N.V., Bulumbaeva D.M., Prokof'ev V.F., Konenkov V.I. Polymorphisms in genes of cytokines and matrix metalloproteinases associated with ischemic heart disease in patients with type 2 diabetes. *Kardiologiya = Kardiologiia*, 2017, vol. 57, no. 8, pp. 5–10. (In Russ.)] doi: 10.18087/cardio.2017.8.10011
3. Коненков В.И. Цитокиновые полигенные комплексы — маркеры индивидуальной настройки состояния цитокиновой сети здорового человека и пациентов с заболеваниями различной природы // Аллергология и иммунология. 2011. Т. 12, № 2. С. 191–194. [Konenkov V.I. Cytokine polygenic complexes — markers of individual adjustment of the state of the cytokine network of a healthy person and patients with diseases of various nature. *Allergologiya i immunologiya = Allergology and Immunology*, 2011, vol. 12, no. 2, pp. 191–194. (In Russ.)]
4. Синицкий М.Ю., Понасенко А.В. Роль полиморфизма и особенностей экспрессии генов рецепторов врожденного иммунного ответа в патогенезе инфекционного эндокардита // Российский кардиологический журнал. 2018. Т. 23, № 10. С. 145–150. [Sinititsky M.Yu., Ponasenko A.V. The role of polymorphism and expression features of innate immune response receptors genes in the pathogenesis of infectious endocarditis. *Rossiiskii kardiologicheskii zhurnal = Russian Journal of Cardiology*, 2018, vol. 23, no. 10, pp. 145–150. (In Russ.)] doi: 10.15829/1560-4071-2018-10-145-150
5. Тырнова Е.В., Алешина Г.М., Янов Ю.К., Кокряков В.Н. Изучение экспрессии гена кателицидина LL-37 в слизистой оболочке верхних дыхательных путей // Российская оториноларингология. 2014. Т. 2, № 69. С. 94–99. [Tyrnova E.V., Aleshina G.M., Yanov Yu.K., Kokryakov V.N. Investigation of cathelicidin ll-37 gene expression in the upper airway mucosa. *Rossiiskaya otorinolaringologiya = Russian Otorhinolaryngology*, 2014, vol. 2, no. 69, pp. 94–99. (In Russ.)]
6. 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. Cytokine signature in infective endocarditis. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 7: e0133631. doi: 10.1371/journal.pone.0133631
7. Awata T., Inoue K., Kurihara S., Ohkubo T., Watanabe M., Inukai K., Inoue I., Katayama S. A common polymorphism in the 5'-untranslated region of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Diabetes*, 2002, vol. 51, no. 5, pp. 1635–1639. doi: 10.2337/diabetes.51.5.1635
8. Biselli P.M., Guerzoni A.R., de Godoy M.F., Pavarino-Bertelli E.C., Goloni-Bertollo E.M. Vascular endothelial growth factor genetic variability and coronary artery disease in Brazilian population. *Heart Vessels*, 2008, vol. 23, no. 6, pp. 371–375. doi: 10.1007/s00380-008-1057-6
9. Carmeliet P., Jain R.K. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature*, 2011, vol. 473, no. 7347, pp. 298–307. doi: 10.1038/nature10144
10. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2009, vol. 29, no. 6, pp. 789–791.
11. Habib G., Erba P.A., Iung B., Donal E., Cosyns B., Laroche C., Popescu B.A., Prendergast B., Tornos P., Sadeghpour A., Oliver A., Vaskelyte J.J., Sow R., Axler O., Maggioni A.P., Lancellotti P. Clinical presentation, aetiology and outcome of infective endocarditis. Results of the ESC-EORP EURO-ENDO (European infective endocarditis) registry: a prospective cohort study. *Eur. Heart J.*, 2019, vol. 40, no. 39, pp. 3222–3232. doi: 10.1093/eurheartj/ehz620

12. Habib G., Lancellotti P., Antunes M.J., Bongiorno M.G., Casalta J.P., Del Zotti F., Dulgheru R., El Khoury G., Erba P.A., Jung B., Miro J.M., Mulder B.J., Plonska-Gosciniak E., Price S., Roos-Hesselink J., Snygg-Martin U., Thuny F., Mas P.T., Vilacosta I., Zamorano J.L. 2015 ESC guidelines for the management of infective endocarditis: the task force for the management of infective endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by: European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM). *Eur. Heart J.*, 2015, vol. 36, no. 44, pp. 3075–3128. doi: 10.1093/eurheartj/ehv319
13. Howell W.M., Ali S., Rose-Zerilli M.J., Ye S. VEGF polymorphisms and severity of atherosclerosis. *J. Med. Genet.*, 2005, vol. 42, no. 6, pp. 485–490. doi: 10.1136/jmg.2004.025734
14. Hubers S.A., DeSimone D.C., Gersh B.J., Anavekar N.S. Infective endocarditis: a contemporary review. *Mayo Clin. Proc.*, 2020, vol. 95, no. 5, pp. 982–997. doi: 10.1016/j.mayocp.2019.12.008
15. Krippel P., Langsenlehner U., Renner W., Yazdani-Biuki B., Wolf G., Wascher T.C., Paulweber B., Haas J., Samonigg H. A common 936 C/T gene polymorphism of vascular endothelial growth factor is associated with decreased breast cancer risk. *Int. J. Cancer*, 2003, vol. 106, no. 4, pp. 468–471. doi: 10.1002/ijc.11238
16. Lambrechts D., Devriendt K., Driscoll D.A., Goldmuntz E., Gewillig M., Vlietinck R., Collen D., Carmeliet P. Low expression VEGF haplotype increases the risk for tetralogy of Fallot: a family based association study. *J. Med. Genet.*, 2005, vol. 42, pp. 519–522. doi: 10.1136/jmg.2004.026443
17. Nakamura M., Abe Y., Tokunaga T. Pathological significance of vascular endothelial growth factor A isoform expression in human cancer. *Pathol. Int.*, 2002, vol. 52, no. 5–6, pp. 331–339. doi: 10.1046/j.1440-827.2002.01367.x
18. Rajani R., Klein J.L. Infective endocarditis: a contemporary update. *Clin. Med. (Lond.)*, 2020, vol. 20, no. 1, pp. 31–35. doi: 10.7861/clinmed.cme.20.1.1
19. Rakocevic J., Orlic D., Mitrovic-Ajtic O., Tomasevic M., Dobric M., Zlatcic N., Milasinovic D., Stankovic G., Ostojic M., Labudovic-Borovic M. Endothelial cell markers from clinician's perspective. *Exp. Mol. Pathol.*, 2017, vol. 102, no. 2, pp. 303–313. doi: 10.1016/j.yexmp.2017.02.005
20. Renner W., Kotschan S., Hoffmann C., Obermayr-Pietsch B., Pilger E. A common 936 C/T mutation in the gene for vascular endothelial growth factor is associated with vascular endothelial growth factor plasma levels. *J. Vasc. Res.*, 2000, vol. 37, no. 6, pp. 443–448. doi: 10.1159/000054076
21. Shibuya M. Vascular endothelial growth factor and its receptor system: physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases. *J. Biochem.*, 2013, vol. 153, no. 1, pp. 13–19. doi: 10.1093/jb/mvs136
22. Vannay A., Vasarhelyi B., Kornyei M., Treszl A., Kozma G., Györfy B., Tulassay T., Sulyok E. Single-nucleotide polymorphisms of VEGF gene are associated with risk of congenital valvuloseptal heart defects. *Am. Heart J.*, 2006, vol. 151, no. 4, pp. 878–881. doi: 10.1016/j.ahj.2005.10.012
23. Weinstock M., Grimm I., Dreier J., Knabbe C., Vollmer T. Genetic variants in genes of the inflammatory response in association with infective endocarditis. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 10: e110151. doi: 10.1371/journal.pone.0110151
24. Xie J., Yi L., Xu Z.F., Mo X.M., Hu Y.L., Wang D.-J., Ren H.-Z., Han B., Wang Y., Yang C., Zhao Y.-L., Shi D.-Q., Jiang Y.-Z., Shen L., Qiao D., Chen S.-L., Yu B.-J. VEGF C-634G polymorphism is associated with protection from isolated ventricular septal defect: case-control and TDT studies. *Eur. J. Hum. Genet.*, 2007, vol. 15, no. 12, pp. 1246–1251. doi: 10.1038/sj.ejhg.5201890
25. Yuzhalin A., Kutikhin A. Integrative systems of genomic risk markers for cancer and other diseases: future of predictive medicine. *Cancer Manag. Res.*, 2012, vol. 4, pp. 131–135. doi: 10.2147/CMAR.S30855

Авторы:

Самойленко Е.С., аспирант кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО Кубанский государственный медицинский университет МР РФ, г. Краснодар, Россия; врач клинической лабораторной диагностики ГБУЗ Научно-исследовательский институт — Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского МЗ Краснодарского края, г. Краснодар, Россия;

Колесникова Н.В., д.б.н., профессор, профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО Кубанский государственный медицинский университет МР РФ, г. Краснодар, Россия;

Баклай В.И., врач-бактериолог ГБУЗ Специализированная клиническая инфекционная больница Министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар, Россия;

Майданникова Е.Ю., биолог клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ Научно-исследовательский институт — Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского МЗ Краснодарского края, г. Краснодар, Россия;

Омельченко Е.В., лаборант клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ Научно-исследовательский институт — Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского МЗ Краснодарского края, г. Краснодар, Россия.

Authors:

Samoylenko E.S., PhD student, Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics of FPS and PPS, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation; Pathologist, Scientific Research Institute — Ochapovsky Regional Clinical Hospital No. 1, Krasnodar, Russian Federation;

Kolesnikova N.V., PhD, MD (Biology), Professor, Professor of the Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics of FPS and PPS, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation;

Baklay V.I., Bacteriologist, Specialized Clinical Infectious Diseases Hospital, Krasnodar, Russian Federation;

Maydannikova E.Yu., Biologist, Clinical Diagnostic Laboratory Pathologist, Scientific Research Institute — Ochapovsky Regional Clinical Hospital No. 1, Krasnodar, Russian Federation;

Omelchenko E.V., Laboratory Assistant, Clinical Diagnostic Laboratory, Scientific Research Institute — Ochapovsky Regional Clinical Hospital No. 1, Krasnodar, Russian Federation.