



Kristiāns Meidrops

**Klīniskā gaita, ārstēšanas rezultāti,  
celulārā un molekulārbioloģiskā atrade  
kardiokirurģiskiem pacientiem ar dažādu  
mikroorganismu ierosinātu  
infekciozo endokardītu**

Promocijas darbs – disertācija – zinātnes doktora grāda

“zinātnes doktors (*Ph. D.*)” iegūšanai

Nozaru grupa – medicīnas un veselības zinātnes

Nozare – klīniskā medicīna

Apakšnozare – ķirurģija

Rīga, 2024

Kristiāns Meidrops

ORCID 0000-0003-2130-8103

Klīniskā gaita, ārstēšanas rezultāti, celulārā un  
molekulārbioloģiskā atrade kardiokirurģiskiem pacientiem  
ar dažādu mikroorganismu ierosinātu infekciozo  
endokardītu

Promocijas darbs – disertācija – zinātnes doktora grāda  
“zinātnes doktors (*Ph. D.*)” iegūšanai

Nozaru grupa – medicīnas un veselības zinātnes

Nozare – klīniskā medicīna

Apakšnozare – ķirurģija

Promocijas darba vadītāji:

*Dr. med.* profesors **Pēteris Stradiņš**, Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

*Dr. habil. med.* profesore **Valērija Groma**, Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Zinātniskais konsultants:

*Dr. med.* docents **Aigars Reinis**, Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

NACIONĀLAIS  
ATTĪSTĪBAS  
PLĀNS 2020



EIROPAS SAVIENĪBA  
Eiropas Sociālais  
fonds

I E G U L D Ī J U M S T A V Ā N Ā K O T N Ē

Promocijas darbs veikts projekta Nr. 8.2.2.0/20/I/004 “Atbalsts doktorantu iesaistei zinātniski pētnieciskajā un studiju darbā” ietvaros



RĪGAS STRADIŅA  
UNIVERSITĀTE

Promocijas darbs veikts ar Rīgas Stradiņa universitātes  
Doktorantūras studiju granta atbalstu



PAULA STRADIŅA  
KLĪNISKĀ UNIVERSITĀTES  
SLIMNĪCA

Promocijas darbs veikts ar Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas  
Zinātniskā institūta granta atbalstu

## Anotācija

Infekciozais endokardīts ir dzīvību apdraudoša slimība, kurai raksturīgs mikroorganismu izraisīts endokarda bojājums. Potenciālie slimības ierosinātāji var būt dažādi, kaut gan atsevišķi mikroorganismi tiek konstatēti biežāk par citiem. Līdz ar to vienas slimības etioloģija, gaita, izpausmes un iznākums var atšķirties. Pacientus visbiežāk apdraud nekontrolēta sistēmiska vai lokāla infekcija, sistēmiska vai pulmonāla veģetāciju embolija, sirds vārstuļu bojājuma izraisīta sirds mazspēja. Infekciozā endokardīta patogēnēzē būtisku lomu ieņem bakterēmija un endotēlija bojājums. Līdz ar to arī infekciozā endokardīta diagnostika ir balstīta uz patoloģiju izraisošā mikroorganisma konstatēšanu asinīs un attēldiagnostiku, kas pierāda endokarda iesaisti procesā.

Attīstoties tehnoloģijām, paplašinājušās diagnostikas un pētniecības iespējas. Ir parādījušies potenciāli jauni, būtiski elementi infekciozā endokardīta patogēnēzes procesā, kurus apzinot iespējams veikt precīzāku diagnostiku, prognozēt slimības nelabvēlīgas gaitas norisi un riska faktorus, kā arī uzlabot ārstēšanas efektivitāti.

Šajā promocijas darbā tika apzināta klīniskā gaita, ārstēšanas rezultāti, celulārās un molekulārbioloģiskās atrades dažādu mikroorganismu ierosināta infekciozā endokardīta gadījumos kardiķirurģiskiem pacientiem. Veikta Latvijā operēto pacientu datu analīze, apzināti biežākie izraisītāji, riska faktori un ārstēšanas rezultāti. Analizēts operāciju materiāls ar 16S rRNS nākamās paaudzes sekvencēšanas tehnoloģiju ierosinātāju identificēšanai. Ekscidētie vārstuļi pētīti morfoloģiski – ar gaismas mikroskopiju un elektronmikroskopiju. Ar imūnhistoķīmijas palīdzību tika konstatēti neitrofilo leukocītu aktivācijas marķieri, kuri norāda uz neitrofilo leukocītu un neitrofilo leukocītu ekstracelulāro lamatu iesaisti patogēnēzes procesā.

Intrahospitālā mirstība operētajiem infekciozā endokardīta pacientiem kopumā bija 11,2 %, taču ilgtermiņa mirstība bija attiecīgi 21,7 % pēc viena gada un 28,7 % pēc trim gadiem. Perivalulāra infekcijas izplatība bija neatkarīgi saistīta ar palielinātu intrahospitālās mirstības risku. Neviens no laboratorajiem rādītājiem nebija neatkarīgi prognostisks intrahospitālajai mirstībai. Netika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība starp asiņu kultūras pozitīva un negatīva infekciozā endokardīta grupām attiecībā uz intrahospitālo mirstību, hospitalizācijas un intensīvās terapijas nodaļā pavadīto laiku, kā arī trīs gadu mirstību. Visbiežāk sastopamais mikroorganisms asiņu kultūras pozitīva infekciozā endokardīta grupā bija *S. aureus*. Tas bija saistīts ar neatkarīgi augstāku intrahospitālo mirstību (RR koeficients 3,332 un 4,408 vienfaktora un daudzfaktoru analīzē), salīdzinot ar citiem slimības izraisītājiem mikroorganismiem. Atšķirībā no *E. faecalis*, *S. aureus* tika novērota arī trīs gadu ilgtermiņa prognoze. Lai diagnosticētu slimības izraisītāju, īpaši asiņu kultūras negatīva infekciozā endokardīta gadījumos, 16S rRNS NGS ir noderīga tehnoloģija. Starp asiņu kultūras negatīva

infekciozā endokardīta ierosinātājiem lielu daļu sastāda *Bartonella spp.* Šiem pacientiem biežāk bija vērojama alkoholisma anamnēze, augstāki kreatinīna un BNP rādītāji, zemāka kreisā kambara izsviedes frakcija, glikozes līmenis, leikocītu un trombocītu skaits.

Bija vērojamas atšķirības *Bartonella spp.* un *ne-Bartonella spp.* infekciozā endokardīta pacientu operāciju materiāla morfoloģiskajā atradē. Atšķirībā no kontroles grupas pacientu vārstuļiem gan *Bartonella spp.*, gan *ne-Bartonella spp.* infekciozā endokardīta pacientu vārstuļos bija vērojama augsta neitrofilo leikocītu aktivizācijas marķieru ekspresija. Statistiski ticami augstāk tā bija vērojama *ne-Bartonella spp.* infekciozā endokardīta grupas pacientiem.

**Atslēgvārdi:** infekciozais endokardīts, mikroorganismi, 16S rRNS NGS, *Bartonella spp.*, neitrofilie leikocīti.

## Abstract

### **Clinical Course, Treatment Outcome, Cellular, and Molecular Biology Findings in Cases of Infective Endocarditis Caused by Various Microorganisms Among Cardiac Surgery Patients**

Infective endocarditis is a life-threatening disease characterized by microorganism-induced damage to the endocardium. There can be several potential causative microorganisms, although some are more commonly detected than others. Consequently, the aetiology, manifestations, course, and outcome of the disease can vary. Regardless of the aetiology, the most common reasons why patients are at risk are uncontrolled systemic or local infection, systemic or pulmonary vegetation embolism, and heart failure caused by valve damage. It has long been believed that bacteraemia and existing endothelial damage play a major role in the pathogenesis of infective endocarditis. Therefore, the diagnosis of infective endocarditis is also based on the detection of the pathogen in the blood and imaging studies that demonstrate endocardial involvement in the process.

With the advancement of technology, diagnostic and research possibilities have expanded. As a result, potentially new significant elements in the pathogenesis of infective endocarditis have emerged, enabling more accurate diagnosis, prediction of unfavorable outcomes and risk factors, as well as increased treatment effectiveness.

In this doctoral thesis, the clinical course, treatment outcomes, cellular and molecular biology findings in cases of infective endocarditis caused by various microorganisms in cardiac surgical patients were identified. An analysis of data from patients operated on in Latvia was conducted, including identification of the most common causative agents, risk factors, and outcomes. Analysis of the excised valves was performed morphologically using light microscopy and electron microscopy. Neutrophilic leukocyte activation markers were identified using immunohistochemistry, indicating neutrophilic leukocyte and neutrophil extracellular trap involvement in the pathogenesis process.

Overall, the intrahospital mortality for operated patients with infective endocarditis was 11.2 %, but the long-term mortality was 21.7 % after one year and 28.7 % after three years. Perivalvular infection prevalence was independently associated with an increased risk of intrahospital mortality. None of the laboratory indicators were independently prognostic for intrahospital mortality. There were no statistically significant differences between the blood culture-positive and negative endocarditis groups in terms of intrahospital mortality, intrahospital and intensive care unit stay, as well as three-year mortality. The most commonly encountered microorganism in the blood culture-positive endocarditis group was *S. aureus*. It was associated with significantly higher intrahospital mortality (RR coefficient of 3.332 and

4.408 in univariate and multivariate analyses, respectively) compared to other disease-causing microorganisms. Unlike *E. faecalis*, *S. aureus* is also associated with worse long-term prognosis in patients with infective endocarditis after cardiac surgery. In cases of blood culture-negative endocarditis 16S rRNA Next-Generation Sequencing is a useful technology for diagnosing the causative agent. Among blood culture-negative infective endocarditis cases, a large portion of the causative agents are *Bartonella spp.* These patients more frequently have a history of alcoholism, higher creatinine and BNP levels, lower ejection fraction of the left ventricle, lower glucose levels, leukocyte and platelet counts.

There were differences in *Bartonella spp.* and non-*Bartonella spp.* infective endocarditis valvular vegetation morphology. On the contrary of control group patients' cardiac valves a high level of neutrophilic leukocyte activation markers was observed. When compared, marker expression was significantly higher in non-*Bartonella spp.* infective endocarditis patients group.

**Keywords:** infective endocarditis, microorganisms, 16S rRNA NGS, *Bartonella spp.*, neutrophilic leukocytes.

## Satura rādītājs

Anotācija .....	3
Abstract .....	5
Darbā izmantotie saīsinājumi .....	9
Ievads .....	12
Darba mērķis.....	14
Darba uzdevumi.....	14
Darba hipotēze.....	15
Darba novitāte.....	15
Darba ētiskie aspekti.....	15
1. Literatūras apskats .....	16
1.1. Infekciozā endokardīta epidemioloģija .....	16
1.2. Infekciozā endokardīta patoģenēze .....	18
1.3. Neitrofilo leukocītu aktivizācija un ekstracelulārās lamatas .....	19
1.4. Asiņu kultūras negatīvais infekciozais endokardīts .....	21
1.5. Nākamās paaudzes sekvencēšanas tehnoloģija .....	22
2. Materiāli un metodes .....	24
2.1. Pētījuma pacientu raksturojums .....	24
2.1.1. Pētījuma retrospektīvajā daļā iekļauto pacientu raksturojums .....	24
2.1.2. Pētījuma prospektīvajā daļā iekļauto pacientu raksturojums .....	24
2.2. Šūnu un molekulārās bioloģijas metodes.....	25
2.2.1. Operāciju materiāla iegūšana un analizēšana ar nākamās paaudzes sekvencēšanas tehnoloģijas palīdzību.....	25
2.2.2. Mikroorganismu DNS ekstrakcija .....	26
2.2.3. 16S rRNS gēna V3–V4 amplifikācija un <i>Illumina MiSeq</i> sekvencēšana .....	26
2.3. Operāciju materiāla iegūšana un sagatavošana morfoloģijas pētījumiem .....	27
2.3.1. Sirds vārstuļu lapiņu un veģetāciju histopatoloģiskā un histoķīmiskā izmeklēšana.....	27
2.3.2. Sirds vārstuļu lapiņu un veģetāciju imūnhistoķīmiskā izmeklēšana .....	27
2.3.3. Sirds vārstuļu lapiņu un veģetāciju caurstarojošā elektronmikroskopija .....	28
2.3.4. Sirds vārstuļu lapiņu un veģetāciju skenējošā elektronmikroskopija .....	28
2.4. Datu statistiskā apstrāde.....	28
2.4.1. Kardiķirurģisko infekciozā endokardīta pacientu riska faktori .....	28
2.4.2. Asiņu kultūras negatīva un pozitīva infekciozā endokardīta salīdzinājums kardiķirurģiskajiem pacientiem .....	29
2.4.3. Biežāko infekciozā endokardīta ierosinātāju mikroorganismu klīniskās gaitas un iznākuma atšķirības kardiķirurģiskajiem pacientiem .....	29
2.4.4. 16S rRNS nākamās paaudzes sekvencēšanas lietojums infekciozā endokardīta pacientu vārstuļu paraugos.....	30
2.4.5. Morfoloģiskās atrades un neitrofilo leukocītu aktivācijas salīdzinājums <i>Bartonella spp.</i> un <i>ne-Bartonella spp.</i> infekciozā endokardīta gadījumos.....	30
3. Rezultāti.....	31
3.1. Kardiķirurģisko infekciozā endokardīta pacientu riska faktori.....	31
3.2. Asiņu kultūras negatīva un pozitīva infekciozā endokardīta salīdzinājums kardiķirurģiskajiem pacientiem.....	35
3.3. Biežāko infekciozā endokardīta ierosinātāju mikroorganismu klīniskās gaitas un iznākuma atšķirības kardiķirurģiskajiem pacientiem.....	40
3.4. 16S rRNS nākamās paaudzes sekvencēšanas lietojums infekciozā endokardīta pacientu vārstuļu paraugos.....	43



3.5. Morfoloģiskās atrades un neitrofilo leikocītu aktivācijas salīdzinājums <i>Bartonella spp.</i> un ne- <i>Bartonella spp.</i> infekciozā endokardīta gadījumos .....	46
3.5.1. Histopatoloģiskā un histokīmiskā atrade .....	47
3.5.2. Neitrofilo leikocītu aktivācijas marķieru imūnhistoķīmiskais novērtējums sirds vārstuļu lapiņās un veģetācijās .....	49
3.5.3. Imūnhistoķīmiski noteikto neitrofilo leikocītu aktivācijas marķieru daudzfaktoru analīze .....	55
3.5.4. Vārstuļu lapiņu un veģetāciju ultrastrukturālā analīze .....	58
3.5.5. Hierarhiskā klasterizācija un aluviālā diagramma datu līdzības izpētei un vizualizācijai .....	60
4. Diskusija .....	63
4.1. Kardiķirurģisko infekciozā endokardīta pacientu riska faktori.....	63
4.2. Asiņu kultūras negatīva un pozitīva infekciozā endokardīta salīdzinājums kardiķirurģiskajiem pacientiem.....	65
4.3. Biežāko infekciozā endokardīta ierosinātāju mikroorganismu klīniskās gaitas un iznākuma atšķirības kardiķirurģiskajiem pacientiem.....	66
4.4. 16S rRNS nākamās paaudzes sekvencēšanas lietojums infekciozā endokardīta pacientu vārstuļu paraugos.....	68
4.5. Morfoloģiskās atrades un neitrofilo leikocītu aktivācijas salīdzinājums <i>Bartonella spp.</i> un ne- <i>Bartonella spp.</i> infekciozā endokardīta gadījumos .....	70
Secinājumi .....	74
Praktiskās rekomendācijas .....	75
Publikācijas un ziņojumi par promocijas darba tēmu .....	76
Literatūras saraksts .....	78
Pateicības.....	89
Pielikumi .....	90
1. pielikums .....	91
2. pielikums .....	92
3. pielikums .....	94
4. pielikums .....	96
5. pielikums .....	100

## Darbā izmantotie saīsinājumi

Saīsinājums	Skaidrojums latviešu valodā	Skaidrojums angļu valodā
AKNIE	Asiņu kultūras negatīvais infekciozais endokardīts	<i>Blood culture-negative endocarditis (BCNE)</i>
AKPIE	Asiņu kultūras pozitīvais infekciozais endokardīts	<i>Blood culture-positive endocarditis (BCPE)</i>
BNP	B-tipa nātrijurētiskais peptīds	<i>B-type natriuretic peptide (BNP)</i>
CNS	Centrālā nervu sistēma	<i>Central nervous system (CNS)</i>
CP	Kalprotektīns	<i>Calprotectin (CP)</i>
CRO	C-reaktīvais olbaltums	<i>C-reactive protein (CRP)</i>
CT	Datortomogrāfija	<i>Computed tomography</i>
DAB	3,3-diaminobenzidīns	<i>3,3-diaminobenzidine (DAB)</i>
DNS	Dezoksiribonukleīnskābe	<i>Deoxyribonucleic acid (DNA)</i>
ECMO	Ekstrakorporālā membrānu oksigenācija	<i>Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO)</i>
EDD	Beigu diastoliskais diametrs	<i>End diastolic diameter (EDD)</i>
ESD	Beigu sistoliskais diametrs	<i>End systolic diameter (ESD)</i>
FFPE	Formalīnā fiksētie un parafīnā ieguldītie	<i>Formalin-Fixed Paraffin-Embedded (FFPE)</i>
GP1b	Glikoproteīns 1b	<i>Glycoprotein Ib (GP1b)</i>
HACEK	<i>Haemophilus parainfluenzae,</i> <i>Haemophilus aphrophilus,</i> <i>Haemophilus paraphrophilus,</i> <i>Haemophilus influenzae,</i> <i>Actinobacillus</i> <i>actinomycetemcomitans,</i> <i>Cardiobacterium hominis,</i> <i>Eikenella corrodens, Kingella</i> <i>kingae un Kingella</i> <i>denitrificans</i>	
HIV	Cilvēka imūndeficīta vīruss	<i>Human immunodeficiency virus (HIV)</i>
H&E	Hemoksilīns un eozīns	<i>Haematoxylin and Eosin (H&amp;E)</i>
IA	Izredžu attiecība	<i>Odds ratio (OR)</i>
IABP	Intraaortālā balona kontrapulsācija	<i>Intra-aortic balloon pump (IABP)</i>
IE	Infekciozais endokardīts	<i>Infective endocarditis (IE)</i>
IF	Kreisā kambara izsviedes frakcija	<i>Ejection fraction of the left ventricle (EF)</i>
IgG	Imūnglobulīns G	<i>Immunoglobulin G (IgG)</i>
ITN	Intensīvās terapijas nodaļa	<i>Intensive care unit (ICU)</i>

IVS	Kambaru starpsiena	<i>Interventricular septum (IVS)</i>
KoNS	Koagulāzes negatīvie stafilokoki	<i>Coagulase-negative staphylococci (CoNS)</i>
ĶMI	Ķermeņa masas indekss	<i>Body mass index (BMI)</i>
LAVI	Kreisā priekškambara tilpuma indekss	<i>Left atrial volume index (LAVI)</i>
LFA-1	Leikocītu funkcijas asociētais antigēns-1	<i>Leukocyte function-associated antigen-1 (LFA1)</i>
MANOVA	Daudzfaktoru dispersiju analīze	<i>Multivariate analysis of variance (MANOVA)</i>
MAPK	Mitogēna aktivētā proteīnkināze	<i>Mitogen-activated protein kinase (MAPK)</i>
MPO	Mieloperoksidāze	<i>Myeloperoxidase (MPO)</i>
MRI	Magnētiskā rezonanse	<i>Magnetic resonance imaging (MRI)</i>
NADPH	Nikotīnamīda adenīna adenodīnucleotīda fosfāts	<i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH)</i>
NE	Neitrofilu elastāze	<i>Neutrophil elastase (NE)</i>
NET	Neitrofilo leikocītu ekstracelulārās lamatas	<i>Neutrophil leukocyte extracellular traps (NET)</i>
NGS	Nākamās paaudzes sekvenčēšana	<i>Next generation sequencing (NGS)</i>
NTE	Nebakteriāls trombotisks endokardīts	<i>Nonbacterial thrombotic endocarditis (NBTE)</i>
NVE	Natīvā vārstuļa endokardīts	<i>Native valve endocarditis (NVE)</i>
PECAM-1	Trombocītu endoteliālās šūnas adhēzijas molekula-1	<i>Platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1)</i>
PI3K	Fosfoinozitīda 3-kināze	<i>Phosphoinositide 3-kinase (PI3K)</i>
PĶR	Polimerāzes ķēdes reakcija	<i>Polymerase chain reaction (PCR)</i>
PSGL-1	P-selektīna glikoproteīna ligands-1	<i>P- selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1)</i>
PSKUS	Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca	<i>Pauls Stradins Clinical University Hospital (PSCUH)</i>
PVE	Vārstuļu protēžu endokardīts	<i>Prosthetic valve endocarditis (PVE)</i>
rRNS	Ribosomālā ribonukleīnskābe	<i>ribosomal ribonucleic acid (rRNA)</i>
ROS	Brīvie skābekļa radikāļi	<i>Reactive oxygen species (ROS)</i>
RR	Relatīvais risks	<i>Relative risk (RR)</i>
SEM	Skenējošā elektronu mikroskopija	<i>Scanning electron microscopy (SEM)</i>
SN	Standartnovirze	<i>Standard deviation (SD)</i>
SOFA	Secīgs orgānu mazspējas novērtējums	<i>Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)</i>

Syk	Liesas tirozīnkināze	<i>Spleen tyrosin kinase (Syk)</i>
TAPSE	Trikuspidālā vārstuļa plaknes sistoliskā ekskursija	<i>Tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE)</i>
TEE	Transezofageāla ehokardiogrāfija	<i>Transoesophageal echocardiography (TOE)</i>
TEM	Caurstarojošā elektronu mikroskopija	<i>Transmission electron microscopy (TEM)</i>
TLR	<i>Toll-like</i> receptori	<i>Toll-like receptors (TLR)</i>
VHB	B vīrushepatīts	<i>Hepatitis B virus (HBV)</i>
VHC	C vīrushepatīts	<i>Hepatitis C virus (HCV)</i>
95 % TI	95 % ticamības intervāls	<i>95 % confidence interval (95 % CI)</i>

## Ievads

Infekciozais endokardīts (IE) ir dzīvību apdraudoša infekcijas slimība, kas skar sirds iekšējo slāni (endokardu), tai skaitā sirds vārstuļus. IE tiek saistīts ar augstu mirstības un komplikāciju attīstības risku. Intrahospitālā mirstība šiem pacientiem ir 15–30 % (Fernández-Hidalgo et al., 2008). Endokardīta diagnostika nereti ir sarežģīta tā nespecifisko izpausmju un variablās klīniskās atrades dēļ. Klīniskā gaita var būt strauji noritoša, progresējoša, kā arī lēna, ar nespecifiskiem simptomiem, tāpēc ir liela iespējamo diferenciāldiagnožu varbūtība (Habib et al., 2015).

Ir vērojamas izmaiņas šīs slimības izraisīto mikroorganismu incidencē. Šobrīd attīstītajās pasaules daļās vairums IE gadījumu ir saistīti ar *S. aureus*, kam seko *E. faecalis*, streptokoki un koagulāzes negatīvie stafilokoki (Slipczuk et al., 2013). Iespējams, arī sēnīšu izraisīts IE, taču to biežāk novēro pacientiem ar intrakardiāliem katetriem un ierīcēm, intravenozo narkotiku lietotājiem, kā arī pacientiem ar imūnsupresiju un tiem, kuri saņem citotoksisku terapiju. No sēnītēm, kuras izraisa IE, visbiežāk sastopamas *Candida*, kam pēc biežuma seko *Aspergillus* un *Histoplasma* sēnītes (Yuan, 2016). Konstatētas izmaiņas kādreiz uzskatītajos riska faktoros, kas pamatā ir saistāms ar medicīnas attīstību un progresu. Vērojama ievērojama sirds slimības incidences samazināšanās, tomēr reizē ievērojami pieaug ar veselības aprūpi saistīto IE gadījumu skaits (Holland et al., 2016).

Mūsdienās IE tiek diagnosticēts, balstoties uz modificētajiem Djūka (*Duke*, angļu val.) kritērijiem (Durack et al., 1994; Li et al., 2000; Fowler et al., 2023; Delgado et al., 2023), kur attēldiagnostika, kas pierāda endokarda iesaisti slimības procesā, un asiņu uzņēmums ar mikroorganisma identifikāciju un antibakteriālo jutību ir IE diagnozes pamatā. Neskatoties uz to, līdz 31 % gadījumu un vairāk nav iespējams sākotnēji identificēt IE ierosinošo mikroorganismu (Philippe Brouqui & Raoult, 2006). Šī situācija ir tā sauktais asiņu kultūras negatīvais infekciozais endokardīts. Visbiežāk tā iemesls ir iepriekš uzsākta antibiotiku terapija. Tomēr izraisītājs var būt arī iepriekš minētā sēnīšu infekcija, obligāti intracelulārās baktērijas vai baktērijas, kas parastajās barotnēs neaug (Kupferwasser & Bayer, 2001). Šādos gadījumos papildus parastajām metodēm var būt nepieciešamas seroloģiskās analīzes vai molekulārās diagnostikas metodes (Fournier et al., 2010). Molekulārās diagnostikas metodes, kas ir balstītas uz ribosomālo RNS (rRNS) gēnu – 16S rRNS baktērijām un 18S rRNS sēnītēm – amplifikāciju un sekvenču analīzi, kopš pagājušā gadsimta deviņdesmitajiem gadiem tika lietotas uz ekscidēto vārstuļu audiem, lai identificētu patoloģiju izraisīto mikroorganismu (Goldenberger et al., 1997). Līdz šim vairāki pētījumi ir pierādījuši molekulāro diagnostikas metožu noderīgumu, kā arī ietekmi uz antibakteriālo terapiju, apsverot šo metožu iekļaušanu Djūka kritērijos IE

diagnostikai (Breitkopf et al., 2005; Gauduchon et al., 2003; Millar et al., 2001; Shrestha et al., 2015; Fowler et al., 2023).

Slimība attīstās, mikroorganismiem nonākot asiņu straumē un piestiprinoties pie bojāta vai iekaisuša endokarda, visbiežāk vārstuļu virsmas. Normāli sirdi un sirds vārstuļus izklājošais endotēlija šūnu slānis ir rezistents pret bakteriālām un sēnīšu infekcijām (Durack et al., 1973). Eksperimentos ar dzīvniekiem ir pierādīts, ka endokardīta patoģenēzē svarīgu lomu ieņem atkārtots endotēlija bojājums un tranzitora bakterēmija, kas ir pastāvīgi periodiska baktēriju nonākšana asinīs caur ieejas “vārtiem”, piemēram, mutes dobumu, visbiežāk sliktas zobu higiēnas dēļ un stomatoloģisko manipulāciju laikā (Farbod et al., 2009). Kā viens no biežākajiem ieejas “vārtiem” tiek minēts mutes dobums, tomēr ne vienmēr IE ierosinātājs ir mutes mikroflora, bet, piemēram, kuņģa-zarnu trakts, āda utt. Turklāt daži mikroorganismi IE izraisa bieži, citi – ļoti reti.

Mikroorganismi kopā ar imūnās sistēmas elementiem rada vārstuļu bojājumu un slimībai raksturīgās papildu struktūras – veģetācijas, kas potenciāli var embolizēties asiņu plūsmas rezultātā (Liesenborghs et al., 2020). Veģetācijas sastāv no vairākiem komponentiem – trombocītiem, fibrīna, fibronektīna, mikroorganismiem, iekaisuma šūnām un citiem, turklāt to struktūra var atšķirties dažādu mikroorganismu izraisītu IE gadījumos (Braī et al., 2023; Martin et al., 2020). Infekcija var izraisīt vārstuļu lapiņu bojājumus (Thiene & Basso, 2006). Fibronektīnam un fon Vilebranda (*von Willebrand*) faktoram ir nozīmīga loma baktēriju adhēzijas procesā pie bojātā vai iekaisušā endotēlija trombotisko masu depozītiem (Liesenborghs et al., 2020). Nesenie pētījumi parādījuši, ka endoteliālo šūnu bojāejā IE gadījumā liela nozīme ir arī apoptozei, kas ir novērojama *S. aureus* invāzijas gadījumā. Turklāt novērots, lai arī būdams ekstracelulārs patogēns, tomēr *S. aureus* spēj iekļūt endotēlija šūnā un izvairīties no fagolizosomām, tādējādi izvairoties no fagocitozes (Liesenborghs et al., 2019). Infekcija var destruēt vārstuļus, kā arī izplatīties sirdī ārpus endokarda robežām un tās veidotās veģetācijas, var embolizēties un radīt tādas nopietnas sekas kā cerebrālu infarktu vai nāvi. Kopumā iemesli, kāpēc pacienti tiek apdraudēti IE gadījumā, visbiežāk ir nekontrolēta sistēmiska vai lokāla infekcija, sistēmiska vai pulmonāla veģetāciju embolija, kā arī sirds vārstuļu bojājuma izraisīta sirds mazspēja.

IE ārstēšanas pamatā ir antibakteriāla terapija, taču aptuveni 40–50 % IE gadījumu nepieciešama operatīva terapija (Murdoch et al., 2009). Indikācijas sirds operācijai ir IE ar aortas vai mitrālā vārstuļa nepietiekamību un akūtu sirds mazspēju, infekcijas lokāla izplatība sirdī (abscess u. c.) un lielas (> 10 mm) veģetācijas (Habib et al., 2015b). Vairāk nekā 50 % pacientu jau diagnozes noteikšanas brīdī ir notikusi subklīniska vai simptomātiska veģetāciju embolija (Cooper et al., 2009). Laika ziņā indikācijas sirds operācijai var svārstīties no

neatliekamām un steidzamām līdz plānveida (Delahaye et al., 2004; Habib et al., 2015; Pettersson & Hussain, 2019).

Neārstēts IE gandrīz 100 % ir fatāls. IE pacientu prognozi visbiežāk ietekmē tādi faktori kā pacienta klīniskais stāvoklis, IE komplikāciju esamība/neesamība, IE izraisošais mikroorganisms (piemēram, *S. aureus* augstāka mirstība), ehokardiogrāfijas atrade. Atkarībā no šo faktoru esamības vai neesamības mainās pacienta prognoze. Pēc veiksmīgi izārstēta endokardīta atkārtotas infekcijas risks svārstās no 2 līdz 6 % (Alagna et al., 2014).

Šis pētījums šobrīd ir aktuāls, jo IE ir slimība, kuras patogēnēzē vēl aizvien ir daudz nezināmā. Zināms, ka infekcijas procesā piedalās daudz iekaisuma šūnu un pamatā tie ir neitrofilie leukocīti. Ir pierādīta arī tādu relatīvi nesenu atklātu struktūru kā neitrofilo leukocītu ekstracelulāro lamatu (NET) iesaiste IE procesā (Brinkmann et al., 2004). Baktērijas izraisa intensīvu imūnreakciju, kuras rezultātā rodas NET, kas ir viena no aizsargmehānismu izpausmēm organisma cīņā pret infekciju. NET ir tīklveida veidojumi, ko izdala aktivizētas imūnās šūnas, it īpaši neitrofilie leukocīti. Šīs struktūras sastāv no dezoksiribonukleīnskābes (DNS), histonu proteīniem un citiem proteīniem, un tie ir spējīgi noķert un inaktivēt mikroorganismus. Tomēr ir pētījumi, kuros norādīts, ka NET varētu veicināt arī audu bojājumu un iekaisuma procesa pastiprināšanos (S. U.-S. Huang & O'Sullivan, 2022). Lai saprastu neitrofilo leukocītu un NET lomu IE attīstībā, ir nepieciešams padziļināti izpētīt šo struktūru klātbūtni, kā arī nozīmi IE patogēnēzē, molekulāro un šūnu līmeņu mehānismus. Šī pētījuma rezultāti varētu sniegt ieskatu par neitrofilo leukocītu, to aktivizācijas un NET lomu dažādu ierosinātāju IE patogēnēzē.

## **Darba mērķis**

Noteikt dažādu mikroorganismu izraisīta infekciozā endokardīta riska faktoros, kas saistīti ar nelabvēlīgu iznākumu, kā arī novērtēt celulārās un molekulārbioloģijas atrades ekscidēto vārstuļu materiālā.

## **Darba uzdevumi**

Promocijas darba mērķa sasniegšanai izvirzīti šādi uzdevumi:

1. Ievākt un analizēt datus par klīnisko gaitu, laboratorisko un attēldiagnostikas metožu rezultātiem no operēto pacientu vēsturēm. Noteikt, kuri mikroorganismi ir saistīti ar augstāko mirstību un komplikācijām.
2. Noskaidrot riska faktoros, kuri saistīti ar intrahospitālo mirstību.
3. Novērtēt un salīdzināt asiņu kultūras pozitīva un negatīva endokardīta iznākumus īstermiņā un ilgtermiņā.

4. Veikt sirds operācijas laikā ekscidēto vārstuļu materiāla mikrobioloģisko uzskējumu un izpēti ar 16S rRNS NGS tehnoloģijas palīdzību, novērtējot tās nozīmi infekciozā endokardīta patogēnu diagnostikā.
5. Veikt sirds operācijas laikā ekscidēto vārstuļu materiāla morfoloģisko izpēti. Analizēt neitrofilo leikocītu, to aktivācijas marķieru un neitrofilo leikocītu ekstracelulāro lamatu klātbūtni dažādu mikroorganismu izraisīta infekciozā endokardīta gadījumos.

### **Darba hipotēze**

Dažādu mikroorganismu izraisīts infekciozais endokardīts ir saistīts ar atšķirīgu klīnisko iznākumu, komplikācijām un prognozi sirds ķirurģijas pacientiem.

### **Darba novitāte**

Šī darba pētījumos analizēta infekciozā endokardīta izraisošā mikroorganisma, kā arī tā identifikācijas trūkuma ietekme uz iznākumu. Izmantojot nākamās paaudzes sekvenčēšanas tehnoloģiju un analizējot operācijas materiālu, iespējams biežāk atklāt patoloģiju izraisīto mikroorganismu. Nesen iznākušajās 2023. gada Eiropas Kardiologu asociācijas un Eiropas Kardiotorakālās ķirurģijas asociācijas infekciozā endokardīta vadlīnijās šī metode ir parādījusies kā jaunums un par to nav daudz informācijas IE aspektā. To ieteikts apsvērt tādu diagnostisku grūtību kā asiņu kultūras negatīva infekciozā endokardīta gadījumā. Šajā darbā veikta operāciju materiāla morfoloģiskā analīze, sākot no makroskopiska līmeņa līdz elektronmikroskopijai. Pirmo reizi analizēta neitrofilo leikocītu aktivācijas marķieru un ekstracelulāro lamatu iesaiste *Bartonella spp.* infekciozā endokardīta patoģenēzes procesā.

### **Darba ētiskie aspekti**

Pētnieciskais darbs tika veikts saskaņā ar 1964. gada Helsinku deklarāciju. Katrs pētījuma dalībnieks saņēma informētās piekrišanas veidlapu, ko aizpildīja un parakstīja. Visas pētījuma sadaļas tika veiktas saskaņā ar ētikas principiem, saglabājot pacientu anonimitāti un konfidencialitāti. Pētījumiem tika saņemta Latvijas Centrālās medicīnas ētikas komitejas atļauja (lēmums nr. 5070).



## 1. Literatūras apskats

### 1.1. Infekciozā endokardīta epidemioloģija

Infekciozo endokardītu (IE) kā atsevišķu slimību pirmais minēja sers Viljams Oslers 1885. gadā gulstoniešu lekcijās (*Gulstonian lectures*, angļu val.), kur tā gaitu aprakstīja kā vienkāršu vai malignu. Tāpat arī tiek uzsvērts, ka visbiežāk endokardīts attīstās sekundāri kādai primārai slimībai (Osler, 1885). Mūsdienās izpratne par IE ir krietni paplašinājusies, tomēr, ņemot vērā salīdzinoši daudzus ierosinātājus patogēnus, IE epidemioloģija un riska faktori var variēt dažādās pasaules daļās. Novērots, ka ar IE biežāk slimo vīrieši ar attiecību aptuveni 2:1 (Slipczuk et al., 2013). Atkarībā no ģeogrāfiskās lokalizācijas IE incidence tiek lēsta aptuveni 3,1–15 gadījumu uz 100 000 iedzīvotāju gadā (Hoen et al., 2002; Pant et al., 2015). Pētījumā, kas tika veikts Anglijā laika posmā no 2000. līdz 2013. gadam, IE incidence konstatēta 3,62 gadījumos uz 100 000 iedzīvotāju gadā, turklāt augstākā incidence bija pacientiem vecumā no 70 līdz 79 gadiem (Thornhill et al., 2018). Savukārt Vācijā 10 gadus ilgā pētījumā no 2005. līdz 2014. gadam IE incidence tika konstatēta 11,4 gadījumos uz 100 000 iedzīvotāju. Turklāt šajā pētījumā tika novērots pakāpenisks, statistiski ticams gadījumu skaita pieaugums no 9,5 līdz 14,5 gadījumiem ( $p = 0,006$ ) (Keller et al., 2017). Vēl citā pētījumā, kas tika veikts Toskānā, Itālijā, 17 gadus ilgā laika posmā tika konstatēta IE incidence 4,6 gadījumos uz 100 000 iedzīvotāju gadā ar statistiski ticamu lineāru incidences palielināšanos iepriekš minētajā laika periodā. Tika arī konstatēts, ka, palielinoties pacientu vecumam, pieauga IE incidence. Pacientiem virs 65 gadu vecuma tā bija 11,7 gadījumos uz 100 000 iedzīvotāju gadā (Cresti et al., 2017). Arī atsevišķu centru ziņojumos no citām ģeogrāfiskajām lokalizācijām novērota līdzīga tendence. Dienvidkorejā pētījumā par 12 gadu periodu tika novērots statistiski ticams gadījumu skaita pieaugums no 2005. līdz 2017. gadam (J. H. Kim et al., 2021). Tomēr ziņoti arī pretrunīgi dati par IE gadījumu skaita pieaugumu. Piemēram, pētījumā, kas tika publicēts 2012. gadā, kur analizēta antibiotiku profilakses indikāciju ierobežošanas ietekme uz IE incidences pieaugumu. Tas tika balstīts uz divām iepriekšējām anketām 1991. un 1999. gadā, kas tika izsūtītas trīs Francijas reģionu speciālistiem, kuri nodarbojas ar IE pacientu ārstēšanu, un salīdzināts ar datiem no tāda paša veida anketas 2008. gadā. Šo reģionu kopējā pacientu populācija sasniedza 11 miljonus iedzīvotāju. Pētījumā secināts, ka IE gadījumu skaits statistiski ticami nepieauga, attiecīgi 35, 33 un 32 gadījumi uz vienu miljonu iedzīvotāju (Xavier et al., 2012). Ķīnā veiktā pētījumā, kas iekļāva vienā slimnīcā ārstēto IE pacientu datus par 10 gadu periodu (no 2007. līdz 2016. gadam), arī netika novērots gadījumu skaita pieaugums. Atzīmējams, ka pacientu profils, kā arī IE izraisīto patogēnu sadalījums bija atšķirīgs no minētajām valstīm. Pacientu vidējais vecums bija ievērojami mazāks, kā arī visbiežāk IE bija streptokoku izraisīts (Wu et al., 2020). Līdzīgi gadījumi arī pētījumā Franču

Polinēzijā, kur gados jaunākiem pacientiem ir lielāks streptokoku īpatsvars starp patogēniem, kas izraisa IE, taču papildus atzīmējama liela reimatiskās sirds slimības prevalence populācijā, kas tika konstatēta 33 % no visiem pacientiem ar IE (Blanchard et al., 2020). Lai arī Āfrikas kontinentā IE nav bieži sastopama slimība, pētījumā, kur tika pētīta IE epidemioloģija, reimatiskā sirds slimība tika konstatēta gandrīz pusei IE pacientu (Noubiap et al., 2022). Vēsturiski reimatiskā sirds slimība bija biežākais stāvoklis IE attīstībā, turklāt mitrālais vārstulis bija visbiežāk skartais sirds vārstulis (Rabinovich et al., 1965). Attīstītajās pasaules daļās novērojama tieši slimības izraisītāju patogēnu mainība – ir palielinājusies stafilokoku un enterokoku prevalence, bet samazinājusies *Viridans* grupas streptokoku un asiņu kultūras negatīva IE prevalence. Šāda tendence novērota lielā, sistemātiskā pētījumu apskatā, kas pamatā iekļāva datus no attīstītajām valstīm (Slipczuk et al., 2013). Pētījumā, kurā bija dati no 25 pasaules valstīm, tika novērota dažāda IE izraisošo patogēnu epidemioloģija pasaulē. Ziemeļamerikā kā visbiežākais patogēns tika konstatēts *S. aureus*, 41 % gadījumu, kam sekoja streptokoki un enterokoki. Eiropā un citviet pasaulē *S. aureus* attiecība bija aptuveni līdzīga, savukārt Dienvidamerikā visbiežākie IE izraisītāji tika novēroti tieši streptokoki un *S. aureus* kā ierosinātais konstatēts vien 17 % gadījumu. Jāpiebilst, ka Dienvidamerikā pretēji Ziemeļamerikai novērota augstākā asiņu kultūras negatīva IE prevalence (Murdoch et al., 2009). Mūsdienās, pieaugot invazīvo manipulāciju skaitam, arvien vairāk IE gadījumu tiek saistīti ar veselības aprūpi. Multicentru pētījumā Spānijā, Andalūzijā, 2010. gadā tika konstatēts, ka ar veselības aprūpi saistītie IE gadījumi bija 16 %. Intrahospitalā mirstība šo pacientu grupā bija 44,9 % pret 24,2 % sadzīvē iegūto IE gadījumu grupā (Lomas et al., 2010). Liels multicentru pētījums, iekļaujot 61 slimnīcu 28 valstīs no 2000. līdz 2005. gadam, atklāja, ka pat aptuveni trešdaļa natīvo vārstu IE gadījumu varētu būt saistīti ar veselības aprūpi. Visbiežākais patogēns, kam novērota saistība ar veselības aprūpi, ir *S. aureus*. Pacientiem ar veselības aprūpi saistīta IE gadījumā mirstība bija statistiski ticami augstāka (25 pret 13 %,  $p < 0,001$ ) (Benito et al., 2009). Bez pacientu skaita pieauguma arī konstatēts, ka, salīdzinot ar pagātni, attīstītajās pasaules valstīs ievērojami pieaudzis pacientu vecums. Piemēram, 1926. gadā Džona Hopkina (*John Hopkins*, angļu val.) slimnīcā ASV pacientu vidējais vecums ar IE diagnozi bija mazāks par 30 gadiem (Thayer, 1926). Kā iespējamie iemesli, pirmkārt, tiek minēti reimatiskās sirds slimības gadījumu skaita samazināšanās, kas pamatā skar gados jaunus cilvēkus. Savukārt vārstu degeneratīvās kaites visbiežāk sastopamas vecumā. Otrkārt, populācijas vidējais vecums pakāpeniski pieaug. Treškārt, tas tiek saistīts jau ar iepriekš pieminēto veselības aprūpes pieejamību, jaunām terapijas iespējām – intravaskulāriem katetriem un ierīcēm, parenterālās barošanas līnijām, hemodialīzi u. c. (Holland et al., 2016).

## 1.2. Infekciozā endokardīta patoģenēze

IE patoģenēzē būtiskākie ir divi faktori – endotēlija bojājums, kas rada iespējamu baktēriju piestiprināšanās vietu, un bakterēmija, kur patoģenais mikroorganisms ir spējīgs piestiprināties un tālāk kolonizēt audus (Holland et al., 2016). Eksperimentālos pētījumos ar dzīvniekiem ir pierādīts, ka normāls, nebojāts endotēlijs ir rezistents pret baktēriju kolonizāciju un biofilmas veidošanu un pat baktēriju ievade dzīvnieku organismā nerada IE (Durack et al., 1973). Sākotnēji eksperimentos ar dzīvniekiem tika novērots, ka IE izdevās inducēt, radot tiešu bojājumu dzīvnieka sirds vārstulim ar kontaminētu adatu (Contrepolis, 1995). Vēlākajos pētījumos tika novērots, ka eksperimenta dzīvnieka vārstulim, tikai izvadot cauri polietilēna katetru un atstājot to uz zināmu laiku, tiek radīts endotēlija bojājums un pēc 24 stundām, ievadot baktērijas asiņu straumē, izdodas inducēt IE (Freedman et al., 1974). Būtisks novērojums bija arī fakts, ka, atstājot katetru dzīvnieka sirdī un neievadot patoģēnus, tika konstatēta mazu, trombotisku veģetāciju veidošanās, dzīvniekiem nesaslimstot. Šīs sterilās veģetācijas mikroskopiski sastāvēja pamatā no fibrīna un trombocītiem, bez iekaisuma reakcijas, līdz ar to šis stāvoklis tika dēvēts par nebakteriālo trombotisko endokardītu (NTE) (Durack et al., 1973). Vēsturiski NTE tika dēvēts arī par marantisko un Libmana-Saksa endokardītu. Veidojās uzskats, ka tas ir patoģenēzes posms IE attīstībā. Tomēr šis apgalvojums pilnībā neizskaidro faktu, kāpēc baktērijas specifiski inficē tieši šīs struktūras, jo, piemēram, trombi ātriju fibrilācijas gadījumā veidojas bieži sirds priekškambaros, tomēr IE ātrijos attīstās reti. Līdzīgi arī aneirismu tromboze attīstās bieži, tomēr mikotiskās aneirismas ir sastopamas reti (Liesenborghs et al., 2020). NTE masas variē izmēros un visbiežāk virspusēji piestiprinās vārstuļu audiem, līdz ar to radot risku embolizācijai (el-Shami et al., 2007). Novērota NTE saistība ar malignitāti. Pacientiem ar malignitāti, balstoties uz autopsiju datiem, ir sešas reizes augstāks risks attīstīties NTE – 1,25 % pret 0,2 % (González Quintela et al., 1991; Rosen & Armstrong, 1973). Visbiežāk no malignitātēm tika novērota NTE saistība ar adenokarcinomām, turklāt pamatā tas tika novērots pacientiem ar plaušu un aizkuņģa dziedzera adenokarcinomu (līdz pat 10 %) (el-Shami et al., 2007; González Quintela et al., 1991). Vēl bez malignitātes NTE novērots pacientiem ar reimatoloģiskām un autoimūnām slimībām, kā, piemēram, sistēmas sarkanā vilkēde, antifosfolipīdu sindroms, reimatoīdais artrīts, HIV u. c. (Garcia et al., 2021). Pacientiem ar antifosfolipīdu sindromu NTE tika konstatēts 15 % gadījumu (Lenz et al., 2020). Agrāk valdīja uzskats, ka endotēlija bojājums veidojas no asiņu plūsmas turbulences kādas iepriekš pastāvošas vārstuļu patoloģijas dēļ, visbiežāk reimatisma vai iedzimtas sirdskaites dēļ (Que & Moreillon, 2011; Werdan et al., 2014). Turbulence arī bez virpuļu veidošanās rada reģionus, kur asiņu plūsma ir lēna un pat atpakaļplūstoša, tādējādi palielinot endotēlija kontakta laiku ar baktērijām un cirkulējošajām asiņu plazmas olbaltumvielām. Līdz

ar to tiek radīti labvēlīgi apstākļi infekcijas procesam (White, 1982). Visbiežāk IE attīstās uz mitrālā vai aortālā vārstuļa, retāk uz trikuspidālā un ļoti reti – uz pulmonālā. Iepriekšminētais korelē ar asiņu radīto spiedienu uz vārstuļiem un potenciāli lielāku iespējamību bojāt endotēliju (Lepeschkin, 1952). Tomēr IE attīstība iespējama arī pacientiem ar strukturāli neizmainītiem sirds vārstuļiem. Mūsdienās nedaudz mazāk nekā pusei pacientu, kuriem attīstījies IE, sirds vārstuļi ir strukturāli neizmainīti (Olmos et al., 2014). Līdz ar to tika izvirzīta teorija, ka ne tikai mehānisks bojājums, bet arī iekaisums padara endotēliju uzņēmīgu pret infekciju (Que & Moreillon, 2011; Werdan et al., 2014). Sirds vārstuļu iekaisums visbiežāk ir saistīts ar sistēmiski izplatītu endotēlija aktivāciju, ko novēro sepses pacientiem un intravenozo narkotiku lietotājiem. Tāpat vārstuļu iekaisums novērojams pacientiem ar sirds vārstuļu deģenerāciju. Ja iekaisums ir noteicošais faktors, visbiežākais patogēns, kas izraisa IE, ir *S. aureus*. Savukārt streptokoku izraisīts IE novērojams retāk (Selton-Suty et al., 2012).

### 1.3. Neitrofilo leukocītu aktivizācija un ekstracelulārās lamatas

Neitrofilo leukocītu ekstracelulārās lamatas (NET, *Neutrophil leukocyte extracellular traps*, angļu val.) atklāja 2004. gadā pētnieki Brinkmann, Zychlinsky un viņu kolēģi no Maksa Planka Infekcijas bioloģijas institūta Berlīnē, Vācijā. Viņi konstatēja, ka neitrofilie leukocīti var piedzīvot jaunu šūnu bojāejas veidu, kas ietver to hromatīna izdalīšanu ekstracelulārajā telpā, veidojot tīklam līdzīgu struktūru, kas var notvert un nogalināt svešus mikroorganismus. Šī struktūra satur DNS, histonus un citus proteīnus (Brinkmann et al., 2004). NET veidošanās procesu sauc par netozi. To veidošanās var notikt divos veidos – kā suicidālā netoze un vitālā netoze (J. Huang et al., 2022). Suicidālā netoze ir aktīva neitrofilo leukocītu šūnas apoptoze un NET veidošanās, kam seko šūnas bojāēja. Šajā procesā notiek arī šūnas satura, ieskaitot mitohondriju, izdalīšanās, kā arī NADPH oksidāzes aktivācija, kas veicina brīvo skābekļa radikāļu rašanos (Keshari et al., 2012). Vitālās netozes laikā šūnas bojāēja nenotiek un neitrofilais leukocīts saglabā savu dzīvotspēju un spēj veikt citus uzdevumus, piemēram, fagocitozi. Šajā procesā tīkli tiek veidoti, pārsvarā izdalot DNS, bet neiznīcinot pašu neitrofilo leukocītu šūnu (Yipp & Kubes, 2013). Tomēr ir norādes, ka pastāv arī citi netožu veidi, turklāt ne tikai neitrofilie leukocīti, bet arī citas šūnas, kā makrofāgi/monocīti, tuklās šūnas, bazofilie un eozinofilie leukocīti, kā arī dendrītiskās šūnas, spēj veidot ekstracelulārās lamatas (S. U.-S. Huang & O'Sullivan, 2022). NET atklāšana ir mainījusi sapratni par to, kā neitrofilie leukocīti un imūnsistēma kopumā cīnās ar infekcijām. Kopš to atklāšanas NET ir saistītas ar plašu iekaisuma un infekcijas slimību klāstu, ieskaitot sepsi, autoimūnas slimības un vēzi. NET izpēte ir kļuvusi par aktīvu pētniecības jomu ar turpmākiem centieniem saprast NET veidošanās, regulēšanas un funkcijas mehānismus (Kaplan & Radic, 2012). Pētījumi ir pierādījuši, ka NET

iesaistās arī IE patoģenezē un tas var atvieglot baktēriju piestiprināšanos un kolonizāciju uz vārstuļu endotēlija virsmas un veicināt veģetācijas veidošanos. NET veidošanos IE gadījumā izraisa mijiedarbība starp baktēriju virsmas komponentēm un *Toll-like* receptoru (TLR) uz neitrofilajiem leukocītiem. Tas izraisa NADPH oksidāzes sistēmas aktivizēšanos un brīvo skābekļa radikāļu (ROS) rašanos, kas veicina hromatīna dekondensāciju un NET atbrīvošanos. Kad NET tiek atbrīvotas, tās var darboties kā karkass, pie kā piestiprinās baktērijas un veidojas biofilma, kā arī kā iekaisumu veicinošo molekulu avots, kas piesaista un aktivizē imūnsistēmu (Delgado-Rizo et al., 2017). Vairāki pētījumi ir pierādījuši NET klātbūtni IE slimnieku veģetācijās, kā arī eksperimentālajos slimības modeļos (Narasaraju et al., 2011). Būtiska loma netozē ir gan patoģēnajam mikroorganismam, gan vairākiem citiem faktoriem. Eksperimentālā pētījumā ar žurkām tika konstatēts, ka *S. aureus* stimulē NET veidošanos intravaskulāri, izmantojot aktivētus trombocītus. Tādēļ patoģēna spēja stimulēt NET veidošanos tiek uzskatīta par būtisku faktoru, kas veicina veģetāciju veidošanos IE gadījumā. Vēl citā pētījumā tika demonstrēts, ka patoģēna faktori, piemēram, lipoproteīni un peptidoglikāni, spēj aktivizēt trombocītus, kas stimulē NET veidošanos. Šie secinājumi norāda arī uz potenciālām nākotnes terapijām, kuru mērķis ir novērst trombocītu aktivizāciju un tādējādi samazināt NET veidošanos un endokardīta veģetāciju veidošanos (Jung et al., 2015). P-selektīns ir glikoproteīns, ko ekspresē endotēlija un aktivētu trombocītu citoplazma. P-selektīns ir arī viens no neitrofilo leukocītu un trombocītu mijiedarbības receptoriem, tādēļ šajā pētījumā tika izmantotas P-selektīna antivielas, lai izvērtētu trombocītu iesaisti neitrofilo leukocītu aktivācijā un netozē (Etulain et al., 2015). Neitrofilo leukocītu ekstracelulārajos tīklos ir atrodami vairāki patoģēnu iznīcinoši proteīnu kompleksi, kā, piemēram, mieloperoksidāze, neitrofilu elastāze, kalprotektīns, histoni u. c., kurus konstatējot iespējams netieši arī izteikties par NET klātbūtni. Šī promocijas darba ietvaros veiktajos pētījumos tika izmantotas monoklonālās primārās antivielas, kuru dēļ ir iespējama šo proteīnu kompleksu klātbūtnes vizualizācija un līdz ar to arī netieša NET vizualizācija. Mieloperoksidāze ir peroksidāžu ģimenes enzīms, kas sastopams vairumā imūno sistēmu šūnu granulu, kā arī tas ir NET sastāvā un ar antibakteriālām un antifungālām īpašībām (Siraki, 2021). Mieloperoksidāzes un DNS kompleksu līmeņa noteikšana asinīs potenciāli var kalpot kā biomarķieris NET veidošanās procesiem organismā. Tika konstatēta to augstāka līmeņa saistība ar tādām nopietnām slimībām kā streptokoku izraisīts abscess vai IE, turklāt novērota korelācija ar kardiovaskulāro un visu cēloņu mirstību (Kuo et al., 2022). Neitrofilu elastāze (NE), kas ir serīna proteāze un veicina baktēriju iznīcināšanu, regulē mielopoēzi un leukocītu migrāciju (Lerman & Hammes, 2018). Kalprotektīns (KP) ir citosola proteīnu komplekss, kas arī atrodams uz NET, un tas veicina

endotēlija adhēziju, neitrofilu hemotaksi, pastiprina neitrofilu atkarīgo iekaisumu un ir ar antimikrobiālām funkcijām (Jukic et al., 2021).

#### 1.4. Asiņu kultūras negatīvais infekciozais endokardīts

Asiņu kultūras negatīvais infekciozais endokardīts (AKNIE) ir stāvoklis, kam raksturīgas endokardīta izpausmes, bet asiņu kultūras neuzrāda baktēriju augšanas pazīmes. Šis stāvoklis var radīt grūtības diagnozes noteikšanā un efektīvas ārstēšanas izvēlē. Ar to saskaras aptuveni 5–31 % gadījumu (Fournier et al., 2010), dažos pētījumos līdz pat 70 % (Fournier et al., 2017). Kad asiņu kultūras ir negatīvas, ir svarīgi meklēt citus infekcijas avotus, piemēram, seroloģiskos testus, kā arī izmantot molekulārās diagnostikas testus, kas var noteikt patogēnu DNS (Pant et al., 2015). AKNIE var rasties no vairākiem faktoriem. Šī stāvokļa cēloņi var ietvert gan infekciozas dabas faktorus, gan arī neinfekciozus faktorus. Viens no biežākajiem iemesliem AKNIE ir iepriekšēja antibiotiku terapija, pirms veikti asiņu uzsējumi. Šajā gadījumā asiņu kultūrās var nebūt iespējams atrast infekcijas izraisītāju, jo antibiotikas var būt nomākušas to augšanu (Lamas et al., 2016). Cits AKNIE cēlonis ir tādi mikroorganismi, ko nevar konstatēt ar rutīnas asiņu kultūru uzsējumiem. Šajā gadījumā var būt iesaistīti tādi mikroorganismi kā, piemēram, *Bartonella spp.* vai *Coxiella burnetii* (Fournier et al., 2010). Citi iespējamie faktori var būt iekaisuma procesi, kas radušies bez infekcijas klātbūtnes. Piemēram, autoimūnās slimības, iekaisuma procesi un onkoloģiskās saslimšanas var radīt endokardītu bez mikrobu infekcijas. Tomēr neinfekciozas dabas endokardīts ir sastopams reti, aptuveni 1,1 % no visiem IE gadījumiem (Fournier et al., 2017).

Pētījumos par AKNIE iznākumiem informācija ir pretrunīga. Daži pētījumi ir parādījuši, ka AKNIE ir saistīts ar zemāku nāves risku, salīdzinot ar asiņu kultūras pozitīvo infekciozo endokardītu (AKPIE) (A. Wang et al., 2018). Tomēr citos pētījumos norādīts, ka AKNIE ir saistīts ar augstāku mirstības risku, jo šajos gadījumos diagnoze, kā arī ārstēšana var būt sarežģītāka (Tleyjeh et al., 2007). Būtiska informācija tika publicēta nesenā lielā pētījumā, kas balstīts uz Eiropas Kardioloģijas biedrības Eiropas Infekciozā endokardīta reģistra datu bāzi. Šajā pētījumā tika iekļauti 3113 pacienti, kuriem diagnosticēts endokardīts pētījuma laikā (2016.–2019. gads). No tiem 2590 (83,2 %) pacientiem bija diagnosticēts AKPIE, bet 523 (16,8 %) pacientiem – AKNIE. AKNIE bija prognostiski nozīmīgs faktors viena gada mirstībai, turpretī tiem pacientiem, kuriem tika veikta operācija IE dēļ, uzlabojās izdzīvošanas izredzes. Pētījumā netika novērota statistiski nozīmīga atšķirība iznākumā tiem AKNIE un AKPIE pacientiem, kuriem tika veikta operācija (Kong et al., 2022). Lai uzlabotu AKNIE iznākumus, ir svarīgi laikus diagnosticēt slimību un uzsākt adekvātu ārstēšanu, kas var ietvert ilgstošu antibiotiku kursu un, iespējams, operāciju. Turklāt ir svarīgi veikt detalizētu slimības

izraisītāja izmeklēšanu un ārstēšanu, ņemot vērā slimības izraisītāja īpašības un pacienta medicīnisko vēsturi (A. Wang et al., 2018). Interesanti dati publicēti citā lielā pētījumā, kur tika salīdzinātas pozitīvas un negatīvas kultūras smagas sepses pacientu īpatnības un iznākumi. Kultūras negatīvajiem pacientiem bija īsāks uzturēšanās ilgums slimnīcā un zemāks risks nāvei intensīvās terapijas nodaļā nekā kultūras pozitīvajiem pacientiem. Kopumā intrahospitalās mirstības rādītājs bija zemāks kultūras negatīvajā grupā (35,9 %) nekā kultūras pozitīvajā grupā (44,0 %,  $p = 0,01$ ), kultūras pozitīvajā apakšgrupā, kas saņēma agrīnu atbilstošu antibiotiku terapiju (41,9 %,  $p = 0,11$ ), un kultūras pozitīvajā apakšgrupā, kas to nesaņēma (55,5 %,  $p < 0,001$ ) (Phua et al., 2013). Kā viens no skaidrojumiem sliktākiem rezultātiem kultūras pozitīvajā grupā bija augstā patogēna koncentrācija, kas to padara vieglāk konstatējamu, taču vienlaikus arī izsaucot izteiktāku organisma atbildes reakciju.

Ir būtiski izmeklēt iespējamās cēloņus AKNIE gadījumā, jo tie var potenciāli ietekmēt pacienta iznākumu gan īstermiņā, gan ilgtermiņā.

### 1.5. Nākamās paaudzes sekvencēšanas tehnoloģija

Nākamās paaudzes sekvencēšana (NGS, *Next Generation Sequencing*, anļu val.) ir svarīgs zinātnisks instruments daudzās nozarēs, tostarp medicīnā, bioloģijā un lauksaimniecībā. Nākamās paaudzes sekvencēšana ir DNS/RNS secības noteikšanas tehnoloģija, kas atšķiras no iepriekšējām sekvencēšanas metodēm, piemēram, Sangera sekvencēšanas. Vēsturiski pirmā bija Sangera sekvencēšanas tehnoloģija, kuras nosaukums cēlies no angļu bioķīmiķa Frederika Sangera (*Frederick Sanger*, angļu val.). Sangera sekvencēšana ir tehnoloģija, kas izmantota jau vairāk nekā 30 gadus, un tās pamatā ir ķīmiska metode, kas balstās uz DNS fragmentu sintēzi, izmantojot radioaktīvas vai fluorescējošas bāzes. Sangera sekvencēšanas procesā DNS fragmenti tiek sadalīti un pēc tam katrā fragmentā veikta DNS kopiju sintēze. Šīs DNS kopijas tiek marķētas ar radioaktīvo vai fluorescējošo bāzi un izmērītas, izmantojot elektroforēzi. Šī metode ir ļoti precīza, taču laikietilpīga, tādēļ tā parasti tiek izmantota, lai noteiktu īsus DNS fragmentus ar fiksētu garumu (Sanger et al., 1977). Turpretī NGS tehnoloģija ļauj izmantot paralelizētu procesu, kas ļauj vienlaikus secīgi noteikt miljoniem DNS fragmentu. Tas nodrošina ļoti augstu sekvencēšanas ātrumu un precizitāti, kā arī ļauj izmantot mazāku DNS daudzumu salīdzinājumā ar iepriekšējām metodēm (Shendure & Ji, 2008). NGS tehnoloģijas ir revolucionējušas sekvencēšanas procesu, nodrošinot augstu precizitāti un lielu apjomu, kas padara to par vērtīgu instrumentu zinātniskajā pētniecībā un medicīnā (Mardis, 2008).

16S rRNS NGS tehnoloģija balstās uz 16S rRNS gēna V3/V4 rajona amplifikāciju un sekvencēšanu, kas ir ļoti saglabājošs gēns, atrodamas visās baktērijās. V3/V4 reģions ir viens no biežāk izmantotajiem 16S rRNS gēna reģioniem, ko izmanto, lai identificētu baktērijas ar NGS

tehnoloģijas palīdzību. Tas ir tāpēc, ka šis reģions ir pietiekami garš, lai nodrošinātu pietiekamu diverģenci starp baktērijām, bet arī pietiekami īss, lai būtu efektīvi amplificējams. Turklāt V3/V4 reģionam ir lieliska specifitāte, kas ļauj identificēt baktērijas līdz pat sugu līmenim (Callahan et al., 2016; Janda & Abbott, 2007). Kopumā V3/V4 reģions ir pierādīts kā efektīvs un precīzs līdzeklis baktēriju identificēšanai ar NGS tehnoloģijas palīdzību, tai skaitā IE diagnostikā. Šī tehnoloģija var atrast baktērijas DNS paraugā no asinīm vai sirds audiem. Pētījumi liecina, ka 16S rRNS NGS tehnoloģija var būt jutīgāka, identificējot baktērijas no izgriezto sirds vārstuļu paraugiem, salīdzinot ar asinīm (Rodríguez-García et al., 2021), tāpēc arī mūsu pētījumos fokusējamies uz vārstuļu paraugu analīzi.



## 2. Materiāli un metodes

### 2.1. Pētījuma pacientu raksturojums

Promocijas darba ietvaros dažādos laika periodos tika veikti vairāki pētījumi, kuros analizētas aktuālas IE problēmas. Pētījumos “Kardiķirurģisko infekciozā endokardīta pacientu riska faktori”, “Asiņu kultūras negatīva un pozitīva infekciozā endokardīta salīdzinājums kardiķirurģiskajiem pacientiem” un “Biežāko infekciozā endokardīta ierosinātāju mikroorganismu klīniskās gaitas un iznākuma atšķirības kardiķirurģiskajiem pacientiem” veikta iepriekšminētās problemātikas retrospekcija, savukārt pētījumos “16S rRNS nākamās paaudzes sekvencēšanas pielietojums infekciozā endokardīta pacientu vārstuļu paraugos” un “Morfoloģiskās atrades un neitrofilo leikocītu aktivācijas salīdzinājums *Bartonella spp.* un *ne-Bartonella spp.* infekciozā endokardīta gadījumos” prospektīva izpēte.

#### 2.1.1. Pētījuma retrospektīvajā daļā iekļauto pacientu raksturojums

Pētījumi tika veikti dažādos laika periodos no 2015. līdz 2022. gadam. Visos pētījumos iekļauti pacienti, kuri tika operēti Paula Stradiņa Klīniskajā universitātes slimnīcā (PSKUS) sirds vārstuļu IE dēļ. Pētījumi veikti pieaugušo populācijai; visi pacienti iekļaušanas brīdī bija vismaz 18 gadu veci. Indikācijas operācijai tika izvirzītas saskaņā ar 2015. gada Eiropas Kardiologu asociācijas Infekciozā endokardīta vadīšanas vadlīnijām (Habib et al., 2015), kas ir apkopotas 2.1. tabulā. Pētījuma laikā slimnīcā nebija vadlīnijās rekomendētās “endokardīta komandas”. PSKUS ir vienīgā slimnīca Latvijā, kur tiek nodrošināta kardiķirurģiskā ārstēšana, līdz ar to uzskatāms, ka pētījumā iekļauti visas valsts mēroga populācijas operētie pacienti ar sirds vārstuļu IE. Retrospektīvās daļas pētījumos tika iekļauti visi attiecīgajā pētījuma periodā operētie pacienti atkarībā no konkrētā pētījuma pacientu iekļaušanas kritērijiem.

#### 2.1.2. Pētījuma prospektīvajā daļā iekļauto pacientu raksturojums

Pētījumi tika veikti laika periodā no 2019. gada oktobra līdz 2022. gada jūnijam. Šajos pētījumos iekļauti pacienti, kuri tika operēti PSKUS sirds vārstuļu IE dēļ ar tādām pašām indikācijām, kādas minētas pētījuma retrospektīvajā daļā. Atšķirībā no retrospektīvās daļas šajā sadaļā tika iekļauti nejauši atlasīti pacienti, tādēļ prospektīvās daļas pacientu kohorta neatspoguļo visu attiecīgajā periodā operēto pacientu populāciju. Par piedalīšanos pētījumā pacienti parakstīja informētas piekrišanas veidlapu. Gadījumos, ja pats pacients pirms operācijas nav bijis spējīgs apliecināt savu dalību pētījumā ar parakstu, tika lūgta pacienta radnieku piekrišana. No pacientu vēsturēm iegūti analīžu un izmeklējumu dati. Operācijas laikā iegūtais materiāls tika nosūtīts morfoloģijas pētījumiem, kā arī izmeklēšanai ar NGS tehnoloģijas palīdzību. Par operāciju materiāla izmeklējumiem aprakstīts turpmākajās nodaļās.

**Operācijas indikācijas un neatliekamība kreisās puses vārstuļa infekcioza endokardīta (natīvā vārstuļa endokardīta un vārstuļu protēžu endokardīta) gadījumā**

Indikācijas operācijai	Operācijas neatliekamība <sup>a</sup>	Klase <sup>b</sup>	Līmenis <sup>c</sup>
Aortas vai mitrālā natīvā vārstuļa endokardīts vai vārstuļu protēžu endokardīts ar smagu akūtu regurgitāciju, obstrukciju vai fistulu, kas izraisa refraktāru plaušu tūsku un kardiogēnu šoku	Neatliekama	I	B
Aortas vai mitrālā natīvā vārstuļa endokardīts vai vārstuļu protēžu endokardīts ar smagu regurgitāciju vai obstrukciju, kas izraisa sirds mazspējas simptomus vai sliktas hemodinamiskās tolerances ehokardiogrāfiskas pazīmes	Steidzama	I	B
Lokāli nekontrolēta infekcija (abscess, pseidoaneirisma, fistula, veģetācijas palielināšanās)	Steidzama	I	B
Sēnīšu vai multirezistentu mikroorganismu izraisīta infekcija	Steidzama/plāna	I	C
Pastāvīgi pozitīvas asins kultūras, neraugoties uz atbilstošu antibiotiku terapiju un adekvātu septisku metastātisku perēkļu kontroli	Steidzama	IIa	B
Vārstuļu protēžu endokardīts, ko izraisa stafilokoki vai gramnegatīvas baktērijas, kas nav no <i>HACEK</i> grupas	Steidzama/plāna	IIa	C
Aortas vai mitrālā natīvā vārstuļa endokardīts vai vārstuļu protēžu endokardīts veģetāciju > 10 mm pēc vienas vai vairākām embolijas epizodēm, neraugoties uz atbilstošu antibiotiku terapiju	Steidzama	I	B
Aortas vai mitrālā natīvā vārstuļa endokardīts ar veģetāciju > 10 mm, kas saistīts ar smagu vārstuļa stenozi vai regurgitāciju un zemu operācijas risku	Steidzama	IIa	B
Aortas vai mitrālā natīvā vārstuļa endokardīts vai vārstuļu protēžu endokardīts ar izolētu ļoti lielu veģetāciju (> 30 mm)	Steidzama	IIa	B
Aortas vai mitrālā natīvā vārstuļa endokardīts vai vārstuļu protēžu endokardīts ar izolētu lielu veģetāciju (> 15 mm) un bez citām indikācijām operācijai <sup>d</sup>	Steidzama	IIb	C

<sup>a</sup> Neatliekama ķirurģija: operācija tiek veikta 24 stundu laikā; steidzama operācija: dažu dienu laikā; plānveida operācija: pēc vismaz 1–2 nedēļu ilgas antibiotiku terapijas.

<sup>b</sup> Ieteikumu klase.

<sup>c</sup> Pierādījumu līmenis.

<sup>d</sup> Operācijai var būt priekšroka, ja ir iespējama procedūra, kas saglabā natīvo vārstuli.

## 2.2. Šūnu un molekulārās bioloģijas metodes

### 2.2.1. Operāciju materiāla iegūšana un analizēšana ar nākamās paaudzes sekvencēšanas tehnoloģijas palīdzību

Sirds operācijas laikā no ekscidētajiem audiem tika iegūts neliels veģetācijas paraugs 16S rRNS nākamās paaudzes sekvencēšanas analīzēm, kas tika ievietots sterilā traukā (Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht, Vācija), nekavējoties sasaldēts un uzglabāts –20 grādu pēc Celsija skalas temperatūrā un nogādāts laboratorijā.

### 2.2.2. Mikroorganismu DNS ekstrakcija

Mikroorganismu DNS no sirds vārstuļu audiem tika ekstrahēta, izmantojot *FastDNA Spin Kit for Soil* (MP Biomedicals, ASV), saskaņā ar ražotāja norādījumiem. Ekstrahētā DNS koncentrācija tika noteikta, izmantojot *Qubit 2.0* fluorometru un *Qubit dsDNA HS Assay Kit* (Life Technologies, ASV).

### 2.2.3. 16S rRNS gēna V3–V4 amplifikācija un *Illumina MiSeq* sekvencēšana

*MiSeq* bibliotēkas sagatavošanai tika piemērots divu posmu polimerāzes ķēdes reakcijas (PĶR, *Polymerase chain reaction*, angļu val.) protokols. Praimeriem tika izstrādāti PĶR amplifikācijas palīgpraimeru 16S rRNS gēna V3–V4 reģionam, kas ir specifiski saistīti ar baktēriju domēnu (attiecīgi 341F un 805R) [13], iekļaujot *Illumina* adapterus (2.2. tabula). Mikroorganismu DNS (4 ng) tika atsevišķi amplificēta ar V3 un V4 palīgpraimeriem, izmantojot *Phusion U Multiplex PCR Master Mix* (*Thermo Fisher Scientific*) saskaņā ar šādiem reakcijas apstākļiem: denaturācija 98 °C 30 sekundes, 35 cikli 98 °C 10 sekundes, 67 °C 15 sekundes, 72 °C 15 sekundes un fragmentu pagarināšana 72 °C 7 minūtes. Iegūtos PĶR produktus novērtēja, izmantojot 1,2 % agarozes želeju, un attīrīja, izmantojot *NucleoMag NGS Clean-Up* un *Size Select kit* (*Macherey-Nagel*, Vācija). PĶR produktu koncentrāciju noteica, izmantojot *Qubit dsDNA HS Assay Kit* un *Qubit 2.0* fluorometru, un paraugus normalizēja līdz 4 ng/μl. Otrajā PĶR posmā izmantoja pasūtītus *Nextera XT Index Kit* (*Illumina Inc.*, ASV) palīgpraimerus (*Metabion International AG*, Vācija), lai pievienotu *Illumina MiSeq i7* un *i5* indeksus pie 4 ng V3 un V4 PĶR produktiem. Šai reakcijai izmantoja *Phusion U Multiplex PCR Master Mix*, izmantojot tādus pašus termocikla reakcijas apstākļus, kas norādīti pirmā PĶR posmā. Pēc tam 16S rRNS PĶR produkti tika sapludināti un attīrīti sekvencēšanas reakcijai, izmantojot *NucleoMag* magnētiskās lodītes. 16S rRNS V3–V4 amplikonu kvalitāti un iegūto daudzumu novērtēja, izmantojot *Agilent High Sensitivity DNA Chip kit* un *Agilent 2100 BioAnalyzer* (*Agilent Technologies*, ASV), kā arī *Qubit dsDNA HS Assay Kit* un *Qubit 2.0 Fluorometer*.

2.2. tabula

Pētījumā izmantotie praimeru ar *Illumina* adapteriem, laukumu speiseri un 16S reģiona praimeru

Nosaukums	Sekvence ( <i>Illumina</i> adapters, heterogenitātes speiseris, 16S reģiona praimeru)	Atsauce
16S V3 Fw (341F)	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNNNNNCC TACGGGNGGCWGCAG	Fadrosh et al., 2014
16S V4 Rs (805R)	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNNNNNG ACTACHVGGGTATCTAATCC	Fadrosh et al., 2014

Visi paraugi pirms sekvencēšanas tika apvienoti vienādā molārā koncentrācijā un atšķaidīti līdz 6 pM. Tad tie tika apvienoti un parellīdzināti galosējās sekvencēšanas procesā, izmantojot 500-ciklu *MiSeq Reagent Kit v2* un *Illumina MiSeq (Illumina Inc.)*. No katra parauga bija jāgaida vismaz 10 000 lasījumu. Pēc sekvencēšanas procesa beigām individuālās sekvences tika filtrētas, lai noņemtu zemas kvalitātes sekvences, izmantojot *MiSeq* programmatūru. Visi *MiSeq* kvalitātes apstiprinātie, apgrieztie un filtrētie dati tika eksportēti kā *fastq* faili.

## **2.3. Operāciju materiāla iegūšana un sagatavošana morfoloģijas pētījumiem**

### **2.3.1. Sirids vārstuļu lapiņu un veģetāciju histopatoloģiskā un histoķīmiskā izmeklēšana**

Šajā darbā morfoloģijas pētījumiem izmantotie paraugi tika iegūti sirids operācijas laikā. Mazs paraugs no izgrieztā sirids vārstuļa ar veģetāciju tika nosūtīts uz 16S rRNS nākamās paaudzes sekvencēšanas analīzēm, kā arī papildus paraugs tika paņemts mikrobioloģisko kultūru uzsējumiem. Atlikusī vārstuļa un veģetācijas parauga daļa, ja tā bija pietiekami liela un piemērota, tika nosūtīta histopatoloģiskai, histoķīmiskai un imūnhistoķīmiskai izmeklēšanai. Vārstuļa lapiņas ar makroskopiski redzamajām veģetācijām tika fiksētas 10 % neitrāla formalīna šķīdumā. Audu paraugi tika ieguldīti parafīnā no izgrieztās vārstuļa lapiņas brīvās malas caur veģetācijas struktūru līdz vārstuļa lapiņas pamatnei. Tika sagatavoti konvencionāli 4–5 µm biezuma audu griezumi, kas tika uzklāti uz *SuperFrost Plus* priekšmetstikliņiem (*Gerhard Menzel GmbH, Braunschweig, Vācija*). Audu griezumi tika rutīnas veidā krāsoti ar hematoksilīnu un eozīnu (H&E). Papildus tika izmantots retikulīna sudraba impregnācijas komplekts pēc *Gordon & Sweets (Merck KGaA, Darmstadt, Vācija, 1002510001)*, lai vizualizētu retikulārās šķiedras vārstuļu audos, kā arī lai labāk varētu identificēt baktērijas, izmantojot šīs rekācijas tehnikas priekšrocības (Garvey, 1996). Visbeidzot tika izmantots *Masson Goldners* krāsošanas komplekts saistaudu kolagēna šķiedru vizualizēšanai vārstuļa lapiņā (*Merck KGaA, Darmstadt, Vācija, 1004850001*). Saskaņā ar šo krāsošanas metodi šūnu kodoli tika nokrāsoti tumši brūnā līdz melnā krāsā ar Veigerta dzelzs hematoksilīnu; citoplazma un eritrocīti nokrāsoti sarkanīgi brūni ar azofloksīnu un oranžo G, bet kolagēna šķiedras nokrāsotas zaļas ar gaiši zaļo SF.

### **2.3.2. Sirids vārstuļu lapiņu un veģetāciju imūnhistoķīmiskā izmeklēšana**

Imūnhistoķīmijai izmeklēšanai formalīnā fiksētie un parafīnā ieguldītie (FFPE) paraugi tika apstrādāti konvencionāli. Endogēnas peroksidāzes aktivitātes bloķēšanai izmantoja 3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> šķīdumu metanolā. Specifisko antigēnu pastiprināšanai tika izmantots citrāta buferšķīdums (pH 6) vai TRIS/EDTA buferšķīdums (pH 9) saskaņā ar ražotāja protokoliem un pēc tam tika veikta inkubācija ar primārajām antivielām. Lai atpazītu dažādus neitrofilo leikocītu marķierus, kas raksturīgi NET strukturālajiem elementiem, tika izmantots plašs

spektrs no primārajām antivielām, tostarp anti-mieloperoksidāzes (anti-MPO, *Abcam*, ab208670, 1:1000), anti-histona H3 (*anti-Histone H3*, *Abcam*, ab5103, 1:50), anti-kalprotektīna (*Abcam*, ab22506, 1:1000), anti-neitrofilu elastāzes (*Abcam*, ab131260, 1:1000) un anti-CD62P (anti-P-selektīna) (*Abcam*, ab182135, 1:500). Primāro antivielu pastiprināšana un vizualizācija tika veikta, izmantojot *HiDef Detection HRP* polimēru sistēmu (Nr. 954D-30, *Cell Marque*, ASV) un 3,3-diaminobenzidīna (DAB) tetrahlorīda komplektu (Nr. 957D-30, *Cell Marque*, ASV). Šūnu kodoli tika krāsoti ar *Mayera* hematoksilīnu. Primārās antivielas tika izlaistas imūnhistoķīmisko reakciju negatīvajās kontrolēs. Reakcijas rezultātus novērtēja divi neatkarīgi novērotāji. Mikrofotogrāfijas tika iegūtas, izmantojot *Glissando Slide Scanner (Objective Imaging Ltd.*, Lielbritānija). Antigēnu ekspresiju vārstuļu lapiņā un veģetācijā novērtēja desmit pareizi orientētos mikroskopiskajos laukos, katrā interesējošajā reģionā, un tā tika novērtēti šādi: 0 – negatīva; 1 – vāji pozitīva; 2 – izteikti pozitīva.

### **2.3.3. Sirds vārstuļu lapiņu un veģetāciju caurstarojošā elektronmikroskopija**

Veģetācijas paraugi, kas tika iegūti sirds operācijas laikā, tika sagriezti 1 mm<sup>3</sup> lielumā un apstrādāti, lai veiktu caurstarojošo elektronu mikroskopiju (TEM) un skenējošo elektronu mikroskopiju (SEM). Saskaņā ar rutīnas laboratorijas protokoliem veģetāciju fragmenti tika fiksēti 2,5 % glutaraldehīdā 0,1 M fosfātā. TEM gadījumā tie tika papildus fiksēti 1 % osmija tetroksīdā, dehidratēti un ieguldīti epoksīda sveķos (*Carl Roth* 8623.1, 8639.1). Izveidoti 60 nm biezi griezumumi, kas tika sagriezti ar LKB ultramikrotomu, savākti uz *Formvar* pārklātiem 200-tīkla niķeļa režģiem un krāsoti ar 2 % urānacetātu un svina citrātu. Paraugi tika izvērtēti JEM 1011 caurstarojošajā elektronu mikroskopā (JEOL, Japāna) no  $\times 6000$  līdz  $\times 50\,000$  reižu palielinājumā.

### **2.3.4. Sirds vārstuļu lapiņu un veģetāciju skenējošā elektronmikroskopija**

SEM paraugi tika dehidratēti ar gradētu acetona šķīdumu sēriju, žāvēti ar šķidro CO<sub>2</sub>, izmantojot kritisko punktu metodi (E3000 žāvēšanas ierīce, Apvienotā Karaliste). Paraugi tika pārklāti ar zelta slāni un pārbaudīti ar JSM-6490LV (JEOL, Japāna). Paātrinātais spriegums bija 20 kV, un palielināšanas diapazons no  $\times 500$  līdz  $\times 5000$ .

## **2.4. Datu statistiskā apstrāde**

### **2.4.1. Kardiķirurģisko infekciozā endokardīta pacientu riska faktori**

Aprakstošās statistikas kategoriskās vērtības tika izteiktas kā relatīvais biežums (procenti). Kvantitatīvo mainīgo aprakstam tika izmantotas vidējās vērtības (standarta novirze – SN) un mediāna (starpkvartiļu amplitūda – SA) attiecīgi datiem ar normālsadalījumu un bez tā. Pacientu izdzīvotības grafiku iegūšanai tika izmantota Kaplāna-Meiera (*Kaplan-Meier*, angļu

val.) metode. Koksa (*Cox*, angļu val.) proporcionālā riska modeļi tika veidoti, lai noteiktu mirstības riska faktoros. Tika izveidots viens laboratorisko parametru modelis un viens pirmsoperācijas parametru modelis. Lielākā daļa laboratorijas rādītāju datu bija sadalīti asimetriski (nebija normālsadalījuma), tāpēc pirms to iekļaušanas modelī tika veikta logaritmiskā transformācija. Nepārtrauktie mainīgie, kas neatbilda Koksa proporcionālā modeļa pieņēmumiem, tika kategorizēti (vecums un ķermeņa masas indekss). Par statistiski nozīmīgām tika uzskatītas  $p$  vērtības zem 0,05. Visas statistiskās analīzes tika veiktas, izmantojot *IBM SPSS 26*. versiju.

#### **2.4.2. Asiņu kultūras negatīva un pozitīva infekciozā endokardīta salīdzinājums kardiķirurģiskajiem pacientiem**

Kategoriskās vērtības tika izteiktas kā relatīvais biežums (procenti). Lai aprakstītu kvantitatīvos mainīgos, datiem ar normālsadalījumu tika izmantotas vidējās vērtības (SN), savukārt datiem bez normālsadalījuma tika izmantota mediāna (SA). Vizuālie rīki tika izmantoti, lai novērtētu datu normalitāti. Kategoriskajiem mainīgajiem atbilstoši testa pieņēmumiem tika izmantots hī kvadrāta (*Chi-square*, angļu val.) tests vai Fišera (*Fisher*, angļu val.) eksaktais tests, lai salīdzinātu atšķirības starp grupām. Kvantitatīvajiem mainīgajiem atbilstoši testa pieņēmumiem tika izmantots Stjudenta (*Student*, angļu val.)  $t$ -tests vai Manna-Vitnija (*Mann-Whitney*, angļu val.)  $U$  tests, lai salīdzinātu grupas. Vienfaktora un daudzfaktoru loģistiskās regresijas tika izmantotas, lai pārbaudītu saistību starp potenciālajiem faktoriem, kas varētu ietekmēt intrahospitālo un ilgtermiņa izdzīvotību.  $P$  vērtības zem 0,05 tika uzskatītas par statistiski nozīmīgām. Statistiskās analīzes tika veiktas, izmantojot *IBM SPSS 26*. versiju. Rezultātu attēlošanai izdzīvotības analīzē tika izmantota *RStudio* versija 1.3.1073.

#### **2.4.3. Biežāko infekciozā endokardīta ierosinātāju mikroorganismu klīniskās gaitas un iznākuma atšķirības kardiķirurģiskajiem pacientiem**

Statistikas analīzes tika veiktas, izmantojot *RStudio* versiju 1.4.1717. Aprakstošajā statistikā kvantitatīvo mainīgo aprakstam tika izmantotas vidējās vērtības (SN) un mediāna (SA) attiecīgi datiem ar normālsadalījumu un bez tā. Izmantotās slēdzienstatistikas metodes ietvēra Kruskala-Volisa (*Kruskal-Wallis*, angļu val.) rangu summas testu, Pīrsona hī kvadrāta (*Pearson-Chi square*, angļu val.) testu un Fišera (*Fisher*, angļu val.) eksakto testu datiem ar simulētu  $p$  vērtību (balstītu uz 2000 atkārtojumiem) grupu salīdzinājumiem atbilstoši to pieņēmumiem. Izdzīvotības grafīku vizualizācijai tika izmantota Kaplāna-Meiera (*Kaplan-Meier*, angļu val.) metode, savukārt grupu salīdzinājumiem tika izmantots log-ranga tests un Peto un Peto (*Peto&Peto*, angļu val.) modificētais Gehāna-Vilkoksona (*Gehan-Wilcoxon*, angļu val.) tests.  $P$  vērtības zem 0,05 tika uzskatītas par statistiski nozīmīgām.

#### **2.4.4. 16S rRNS nākamās paaudzes sekvencēšanas lietojums infekciozā endokardīta pacientu vārstuļu paraugos**

Statistikas analīzes tika veiktas, izmantojot *gtsummary* v.1.7.0 pakotni R vides ietvaros. Aprakstošās statistikas rādītāji iekļāva biežumu un procentus kategorisko mainīgo gadījumā un vidējo vērtību, mediānu, standartnovirzi (SN) un starpkvartiļu amplitūdu (SA) nepārtrauktajiem mainīgajiem. No slēdzienstatistikas tika izmantota daudzfaktoru dispersiju analīze (MANOVA, *Multivariate analysis of variance*, angļu val.), lai novērtētu atšķirības starp *Bartonella spp.* pozitīviem un *Bartonella spp.* negatīviem pacientiem. P vērtības zem 0,05 tika uzskatītas par statistiski nozīmīgām.

#### **2.4.5. Morfoloģiskās atrades un neitrofilo leikocītu aktivācijas salīdzinājums *Bartonella spp.* un ne-*Bartonella spp.* infekciozā endokardīta gadījumos**

Datu statistiskā analīze, kā arī diagrammu un grafiku veidošana tika veikta, izmantojot *Prism 9* programmatūru *MacOS* (*GraphPad Software*, LLC, Sandjego, CA, ASV), *JMP 16* (SAS, Cary, NC, ASV) un *Jamovi* programmatūras versiju v.2.4.8. Aprakstošās statistikas analīze ietvēra biežumu un procentu aprēķināšanu kategoriskiem mainīgajiem un vidējās, mediānās vērtības, standartnovirzes (SN) un starpkvartiļu amplitūdas (SA) noteikšanu nepārtrauktajiem mainīgajiem. Slēdzienstatistikai mainīgo lielumu dispersija starp *Bartonella spp.* pozitīvajiem un negatīvajiem pacientiem tika novērtēta, izmantojot daudzfaktoru dispersijas analīzi (MANOVA). Šī analīze tika veikta, izmantojot R vidē iebūvēto statistikas pakotni. Pētāmo imūnhistoķīmisko marķieru intracelulārās un ekstracelulārās ekspresijas salīdzinājums tika analizēts, izmantojot Kruskala-Volisa (*Kruskal-Wallis*, angļu val.) testu, kam sekoja *Benjamini* (*Benjamini*, angļu val.), Krīgera (*Krieger*, angļu val.) un *Yekutieli* (*Yekutieli*, angļu val.) divpakāpju lineāra pastiprināšanas procedūra kā *post-hoc* korekcijas metode. Gadījumos, kad Kruskala-Volisa testa pieņēmumi netika izpildīti, tika izmantots Manna-Vitnija (*Mann-Whitney*, angļu val.) U rangū summas tests. Lai izpētītu iespējamās korelācijas starp pacientu klīniskajiem un imūnhistoķīmiskajiem datiem, tika izmantota Spīrmena (*Spearman*, angļu val.) rangū korelācijas analīze. Tika izmantotas korelācijas matricas un korelācijas klasterizācija, lai sniegtu skaidru pārskatu par saiknēm starp pētāmajiem intracelulārajiem un ekstracelulārajiem imūnhistoķīmiskiem mainīgajiem. Lai samazinātu kovariātu kā potenciālo neskaidrību ietekmi uz attiecīgajām pāru asociācijām, tika veiktas daļējas korelācijas analīzes. Turklāt, lai identificētu modeļus savāktajos datos attiecībā uz pētītajām personām, līdzību un atšķirību, novērtēšanai tika izmantota hierarhiskā klasterizācijas metode. Tāpat tika izveidotas aluviālās diagrammas, lai vizuāli attēlotu asociācijas starp mainīgajiem lielumiem. Statistiskā nozīmība starp mainīgajiem tika noteikta pie sliekšņa  $p < 0,05$ .

### 3. Rezultāti

#### 3.1. Kardiķirurgģisko infekciozā endokardģta pacientu riska faktori

Pģtģjumā tika analizģtas 242 pacientu medicģniskās vģstures laika posmā no 2015. gada 1. janvāra līdz 2019. gada 1. janvārim. Viņiem Paula Stradiņa Klģniskajā universitātes slimnģcā tika veikta sirds operācija IE dģļ. Indikācijas operācijai tika noteiktas, vadoties no 2015. gada Eiropas Kardiologu asociācijas Infekciozā endokardģta vadģšanas vadlģnijām (2.1. tabula). Deviņiem pacientiem operācija tika veikta IE recidģva dģļ. Vidģjais pacientu vecums bija 55,42 (14,48) gadi. Jaunākais operģtais pacients bija 20 gadu vecs, vecākais – 80 gadu vecs. Absolģti lielākā daļa operāciju tika veikta sirds kreisās puses IE dģļ. Sirds labās puses endokardģts tika konstatģts 5,78 % gadģjumu un visbiežāk novģrota saistģba ar intravenozo narkotiku lietošanu. Kombinģti – sirds labās un kreisās puses IE bija konstatģts 4,97 % pacientu. Visbiežākās blakusslimģbas bija hroniska nieru slimģba un hroniska obstruktģva plaušu slimģba. Preoperatģvie pacientu raksturlielumi apkopoti 3.1 tabulā. Visbiežāk infekcijas skartais vārstulis bija izolģti aortālais, kam biežuma ziņā sekoja izolģti mitrālais vārstulis. Abi vārstuļģ infekcijas procesā bija iesaistģti 22,31 % gadģjumu. Vidģji pacientiem bija vģrojamas lielas veģģtācijas 15,54 (8,90) mm. Pārģjie ehokardiogrāfģjas dati ir atspoguļoti 3.2. tabulā. Kopumā gan subklģniskas, gan klģniski konstatģjamas embolģjas incidence bija 26,86 %. Visbiežāk tika novģrota embolģja centrālajā nervu sistģmā (CNS) un liesā. Pārģjās IE komplikācijas apkopotas 3.3. tabulā.

3.1 tabula

**Infekciozā endokardģta pacientu perioperatģvie raksturlielumi**

Vecums, gadi, vidģji	55,42 (14,48)
Dzimums, vģriešu, %	74,00
ķMI, vidģji (kg/m <sup>2</sup> )	25,74 (5,05)
Vārstuļģ protģžu endokardģts, %	21,07
Sirds kreisās puses IE, %	89,25
Sirds labās puses IE, %	5,78
Intravenozo narkotiku lietošanas anamnģze, %	7,85
Kritisks stāvoklis preoperatģvi, %	12,81
<i>EuroSCORE</i> II risks, vidģji, %	6,49



**Preoperatīvi noteiktie IE pacientu ehokardiogrāfijas parametri**

Veģetāciju izmērs, vidēji, mm	15,54 (8,90)
Lokāli nekontrolētas infekcijas pazīmes, %	19,42
Aortas vārstuļa IE, %	39,26
Mitrālā vārstuļa IE, %	28,10
Aortas un mitrālā vārstuļa IE, %	22,31
Trikuspidālā vārstuļa IE, %	5,37
Aortas, mitrālā un trikuspidālā vārstuļa IE, %	1,65
Kreisā kambara IF, vidēji, %	55,46 (8,97)

**Preoperatīvi konstatētās IE komplikācijas**

Perivalvulāra infekcijas izplatība, %	19,42
Sistēmiska embolija, %	26,86
Embolija CNS, %	17,77
Embolija liesā, %	28,10
Embolija nierē, %	4,96

Visbiežāk konstatētais patogēns bija *S. aureus* 17,36 % gadījumu, kam sekoja *Streptococcus spp.* 12,40 %, tāpat arī *E. faecalis* 12,40 % un citi mikroorganismi 14,05 % gadījumu. Pētījuma grupā bija ļoti AKNIE incidence – 45,04 %. Multirezistentu mikroorganismu izraisīts IE tika konstatēts 4,13 % gadījumu. Starp visiem mikroorganismiem *S. aureus* bija saistīts ar 2,3 reizes augstāku mirstību vienfaktora analīzē (TI 1,36–3,80;  $p = 0,002$ ), tomēr daudzfaktoru analīzē netika pierādīta statistiska ticamība (RR 2,01; TI 0,98–4,09;  $p = 0,055$ ). Atkārtota ķirurģiska iejaukšanās akūtas asiņošanas, agrīnas vai vēlīnas sirds tamponādes dēļ (iekļautas arī subsifoidālas perikarda drenāžas) bija nepieciešama 15,29 % gadījumu. Pārējās komplikācijas uzskaitītas 3.4. tabulā.

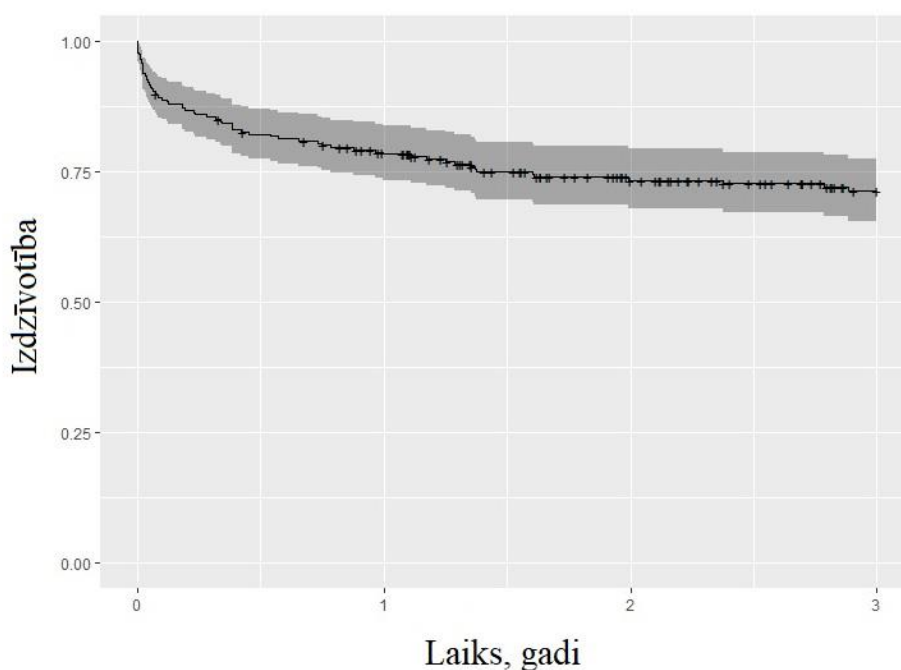
**Biežākās pēcoperācijas IE komplikācijas**

Reoperācija asiņošanas vai sirds tamponādes dēļ, %	15,29
IABP lietošana, %	10,33
ECMO lietošana, %	4,13
Hemodialīze akūtas nieru mazspējas dēļ, %	9,09

Intrahospitālā mirstība bija 11,16 % (27 pacienti). Viena gada mirstība sasniedza 21,70 % (3.5. tabula). Kaplāna-Meiera izdzīvotības līkne IE pacientiem pēc sirds operācijas attēlota 3.1. attēlā. Augstākā mirstība bija novērojama pirmā gada laikā, pēc kā tika vērota līknes stabilizācija.

**Slimnīcā un intensīvās terapijas nodaļā pavadītā laika ilgums, intrahospitālā mirstība, viena gada un trīs gadu izdzīvotība**

Laiks slimnīcā, dienas, vidēji	26,86 (14,69)
Laiks ITN, dienas, vidēji	4,54 (6,76)
Intrahospitālā mirstība, %	11,16
Viena gada izdzīvotība, %	78,30
Trīs gadu izdzīvotība, %	71,30



3.1. attēls. Trīs gadu izdzīvotība operētiem infekciozā endokardīta pacientiem

Tika noteikti riska faktori intrahospitālajai mirstībai. No laboratoriskajiem rādītājiem paaugstināts CRO, BNP un prokalcitonīna līmenis uzrādīja statistiski nozīmīgu saistību ar intrahospitālo mirstību vienfaktora analīzē, tomēr tas neapstiprinājās daudzfaktoru analīzē. Daudzfaktoru analīzē kreatinīnam bija vērojama tendence saistībai ar intrahospitālo mirstību, taču tā nesasniedza statistisku ticamību (3.6. tabula). Līdzīgi tika analizēti arī pārējie riska faktori (3.7. tabula), kur *S. aureus* izraisīts IE, perivalvulāra infekcijas izplatība un veģetāciju sistēmiska embolija bija statistiski nozīmīgi faktori intrahospitālai mirstībai vienfaktora analīzē, tomēr daudzfaktoru analīzē vienīgi perivalvulāra infekcijas izplatība apstiprinājās kā neatkarīgs riska faktors intrahospitālai mirstībai (RR 1,99, TI 1,05–3,78;  $p = 0,035$ ). Tendence daudzfaktoru analīzē saistībai ar intrahospitālo mirstību bija vērojama arī *S. aureus* izraisītam IE, taču netika sasniegta statistiska ticamība.

3.6. tabula

**Intrahospitālās mirstības laboratoriskie prognostiskie faktori vienfaktora un daudzfaktoru loģistiskās regresijas analīzēs**

Parametrs	Vienfaktora RR (95 % TI)	p vērtība	Daudzfaktoru RR (95 % TI)	p vērtība
Log leukocītu skaits × 10 <sup>9</sup> /L	1,19 (0,91–1,57)	0,209	1,11 (0,67–1,84)	0,687
Log CRO, mg/L	1,2 (1,00–1,43)	0,050	0,91 (0,61–1,36)	0,636
Log BNP, pg/ml	1,28 (1,04–1,57)	0,020	0,95 (0,67–1,36)	0,798
Log prokalcitonīns, ng/ml	1,2 (1,09–1,32)	< 0,001	1,19 (0,95–1,49)	0,130
Log kreatinīns, mkmol/L	1,39 (0,93–2,09)	0,110	2,35 (0,99–5,61)	0,054
Log glikoze, mmol/L	1,07 (0,51–2,25)	0,856	0,76 (0,15–3,86)	0,739
Hemoglobīns, g/l	0,99 (0,98–1,00)	0,086	1,00 (0,98–1,02)	0,865
Hematokrīts, %	0,98 (0,94–1,02)	0,293	–	–
Trombocītu skaits × 10 <sup>9</sup> /L	1 (1,00–1,00)	0,573	1,00 (1,00–1,00)	0,606
Log bilirubīns, mkmol/L	1,26 (0,84–1,89)	0,261	1,05 (0,56–1,96)	0,887

\* Dažu parametru datu normalizācijai tika izmantota logaritmiskā datu transformācija.

\*\* Lai izvairītos no multikolinearitātes, hematokrīta rādītāji tika izslēgti daudzfaktoru analīzē.

**Intrahospitālās mirstības prognostiskie faktori vienfaktora un daudzfaktoru loģistiskās regresijas analizēs**

Parametrs	Vienfaktora RR (95 % TI)	p vērtība	Daudzfaktoru RR (95 % TI)	p vērtība
Vecums > 65 gadi	1,27 (0,78–2,06)	0,336	0,88 (0,48–1,61)	0,669
Vīriešu dzimums	0,87 (0,52–1,46)	0,610	0,78 (0,42–1,45)	0,431
ĶMI > 25 kg/m <sup>2</sup>	0,83 (0,51–1,35)	0,457	0,74 (0,43–1,27)	0,270
Natīvā vārstuļa endokardīts	0,80 (0,46–1,39)	0,419	0,90 (0,46–1,76)	0,756
Vārstuļu protēžu endokardīts	1,34 (0,78–2,31)	0,293	–	–
<i>S. aureus</i> IE	2,27 (1,36–3,80)	0,002	2,01 (0,98–4,09)	0,055
<i>Streptococcus spp.</i> IE	1,01 (0,50–2,02)	0,987	1,23 (0,53–2,87)	0,627
<i>E. faecalis</i> IE	0,83 (0,40–1,73)	0,616	1,48 (0,59–3,74)	0,408
Cita mikroorganisma izraisīts IE	1,04 (0,53–2,03)	0,910	1,29 (0,53–3,18)	0,573
Multirezidenta mikroorganisma izraisīts IE	1,30 (0,47–3,58)	0,607	1,40 (0,42–4,66)	0,581
Kreisā kambara IF	0,98 (0,95–1,00)	0,062	0,98 (0,95–1,01)	0,134
Veģetāciju izmērs	1,01 (0,98–1,04)	0,415	1,36 (0,62–3,00)	0,439
Perivalvulāra infekcijas izplatība	1,98 (1,19–3,29)	0,009	1,99 (1,05–3,78)	0,035
Sistēmiska veģetāciju embolija	1,63 (1,00–2,64)	0,048	1,25 (0,70–2,25)	0,453

\* Lai izvairītos no multikolinearitātes, vārstuļu protēžu endokardīta rādītāji tika izslēgti daudzfaktoru analizē.

### Pētījuma rezultātu kopsavilkums

1. Intrahospitālā mirstība pacientiem ar IE, kuriem tika veikta sirds operācija, bija 11,2 %. Viena un trīs gadu mirstība bija attiecīgi 21,7 % un 28,7 %.
2. Perivalvulāra infekcijas izplatība ir neatkarīgi saistīta ar paaugstinātu intrahospitālo mirstību. *S. aureus* izraisītam IE arī bija vērojama šāda tendence.
3. Neviens no laboratoriskajiem rādītājiem nebija neatkarīgi prognostisks intrahospitālajai mirstībai, taču paaugstinātiem kreatinīna rādītājiem bija vērojama šāda tendence.

### 3.2. Asiņu kultūras negatīva un pozitīva infekciozā endokardīta salīdzinājums kardiķirurģiskajiem pacientiem

Šajā pētījumā tika analizētas to pacientu vēstures, kuriem laika posmā no 2016. līdz 2019. gadam tika veikta operācija sirds vārstuļu IE dēļ. Kopumā tika ievākta informācija par 207 pacientiem, no kuriem 93 (44,9 %) bija asiņu kultūras negatīvi. Gan AKNIE, gan AKPIE pacientu grupā izraisošā mikroorganisma konstatēšana no operāciju materiāla bija zema. AKPIE grupā izraisošais mikroorganisms tika konstatēts 13,2 % gadījumu, savukārt AKNIE – 5,4 % gadījumu. Preoperatīvi visi AKPIE un 71 no 93 AKNIE pacientiem tika klasificēti kā

pierādīti IE gadījumi, vadoties pēc Djūka kritērijiem. Divdesmit divi pacienti tika klasificēti kā iespējama IE gadījumi. Indikācijas operācijai tika noteiktas, vadoties no 2015. gada Eiropas Kardiologu asociācijas Infekciozā endokardīta vadīšanas vadlīnijām (2.1. tabula). Visbiežāk indikācijas operācijai bija kombinētas un ir apkopotas 3.8. tabulā.

3.8. tabula

**Infekciozā endokardīta pacientu indikācijas operācijai**

Sirds mazspēja vārstuļu disfunkcijas dēļ, %	5,80
Embolijas prevencija, %	3,86
Sirds mazspēja vārstuļu disfunkcijas dēļ un embolijas prevencija, %	41,06
Sirds mazspēja vārstuļu disfunkcijas dēļ un embolijas prevencija un nekontrolēta infekcija, %	28,02
Sirds mazspēja vārstuļu disfunkcijas dēļ un nekontrolēta infekcija, %	20,29
Nekontrolēta infekcija un embolijas prevencija, %	0,97

Pacientu raksturlielumi un biežākās blakusslimības apkopotas 3.9. tabulā. AKPIE grupā tika konstatēti statistiski vairāk intravenozo narkotiku lietotāji, kā arī augstāka 1. tipa cukura diabēta un C vīrushepatīta (VHC) prevalence. Visbiežāk konstatētie mikroorganismi AKPIE grupā bija *S. aureus* 36 (31 %), *Streptococcus spp.* 27 (24 %), *E. faecalis* 24 (21 %) un citi mikroorganismi 27 (24 %) gadījumos. IE raksturīgu komplikāciju, kā embolijas, lokāli nekontrolētas infekcijas, hemodinamikas nestabilitātes biežumi, kā arī vidējais veģetāciju lielums starp grupām statistiski ticami neatšķīrās (3.10. tabula). Kopumā emboliski notikumi tika novēroti 60 (28,9 %) pacientiem. No laboratoriskajiem rādītājiem AKPIE grupā tika novēroti statistiski ticami augstāki prokalcitonīna un zemāki hemoglobīna un hematokrīta rādītāji (3.11. tabula). Lai arī AKPIE grupā bija vērojams augstāks CRO līmenis, netika sasniegta statistiska ticamība.

3.9. tabula

**Infekciozā endokardīta pacientu raksturlielumi un biežākās blakusslimības atkarībā no asiņu kultūras pozitivitātes**

Parametrs	AKPIE, N = 114	AKNIE, N = 93	p vērtība
Vecums, vidēji (gadi)	57,17 (17,59)	53,61 (12,80)	0,073
Dzimums, vīriešu	78,07	65,59	0,046
ĶMI, vidēji (kg/m <sup>2</sup> )	25,45 (4,48)	25,91 (5,65)	0,531
PVE, %	21,51	19,30	0,694
Aortas vārstuļa IE, %	38,60	41,94	0,626
Mitrālā vārstuļa IE, %	32,46	22,58	0,116
Aortas un mitrālā vārstuļa IE, %	18,42	29,03	0,072

3.9. tabulas turpinājums

Parametrs	AKPIE, N = 114	AKNIE, N = 93	p vērtība
Sirds kreisās puses IE, %	89,47	95,70	0,095
Intravenozo narkotiku lietošana anamnēzē, %	12,28	4,30	0,043
Hemodinamiski stabili, %	88,60	92,47	0,348
Kreisā kambara IF, vidēji, %	55,24 (11,19)	55,77 (9,18)	0,714
<i>EuroSCORE</i> II risks, vidēji, %	7,35	6,80	0,595
1. tipa cukura diabēts, %	5,56	0,00	0,032
2. tipa cukura diabēts, %	9,26	8,79	0,909
HIV infekcija, %	6,42	1,10	0,074
VHC infekcija, %	15,74	5,49	0,022
VHB infekcija, %	0,00	1,10	0,457
Spondilodiscīts, %	5,26	1,08	0,132
Onkoloģiska saslimšana, %	4,39	3,23	0,733
Arteriāla hipertensija, %	4,59	12,09	0,720

3.10. tabula

**Embolijas, lokāli nekontrolētas infekcijas, hemodinamiskas nestabilitātes biežums un veģetāciju vidējais lielums atkarībā no asiņu kultūras pozitivitātes**

Parametrs	AKPIE, N = 114	AKNIE, N = 93	p vērtība
Embolija, %	29,82	27,96	0,768
Lokāli nekontrolēta infekcija, %	30,00	31,87	0,775
Hemodinamiska nestabilitāte, %	11,40	7,53	0,348
Veģetāciju lielums, mm, vidēji	16,70 (9,95)	14,48 (7,69)	0,097

3.11. tabula

**Infekciozā endokardīta pacientu laboratoriskie rādītāji atkarībā no asiņu kultūras pozitivitātes**

Parametrs	AKPIE, N = 114	AKNIE, N = 93	p vērtība
CRO, mg/L	37,90 (9,98–94,33)	25,00 (12,25–63,70)	0,206
Prokalcitonīns, ng/ml	0,45 (0,10–2,33)	0,10 (0,10–0,05)	0,001
BNP, pg/ml	560,45 (157,73–1580,05)	469,50 (178,35–1114,30)	0,424
Kreatinīns, mkmol/L	85,50 (63,25–107,75)	87,50 (66,00–110,00)	0,734
Glikoze, mmol/L	6,08 (1,70)	6,20 (1,56)	0,614
Bilirubīns, mkmol/L	8,00 (6,00–15,00)	8,00 (6,00–12,00)	0,592
Leikocītu skaits × 10 <sup>9</sup> /L	9,20 (4,15)	8,81 (3,73)	0,484
Hemoglobīns, g/L	103,85 (23,00)	110,91 (21,09)	0,024
Hematokrīts, %	32,12 (6,07)	34,06 (6,41)	0,029
Trombocītu skaits × 10 <sup>9</sup> /L	261,73 (129,83)	256,58 (110,58)	0,763

Klīniskie iznākumi, kā slimnīcā pavadītais laiks, intensīvās terapijas nodaļā pavadītais laiks, reoperācijas biežums sakarā ar asiņošanu un intrahospitālā mirstība, apkopoti 3.12. tabulā. Statistiski nozīmīgas atšķirības netika konstatētas nevienā grupā.

3.12. tabula

**Slimnīcā un intensīvās terapijas nodaļā pavadītā laika ilgums, reoperāciju biežums asiņošanas dēļ un intrahospitālā mirstība atkarībā no asiņu kultūras pozitivitātes**

Parametrs	AKPIE, N = 114	AKNIE, N = 93	p vērtība
Laiks slimnīcā, dienas, vidēji	25,00 (16,00–35,00)	23,00 (17,50–31,00)	0,378
Laiks ITN, dienas, vidēji	2,00 (1,00–5,00)	2,00 (1,00–3,00)	0,828
Reoperācija asiņošanas dēļ, %	17,54	12,90	0,358
Intrahospitālā mirstība, %	14,04	5,38	0,062

Mikroorganisma konstatēšana un augstāks prokalcitonīna līmenis vienfaktora analīzē uzrādīja saistību ar intrahospitālo mirstību, tomēr daudzfaktoru analīzē tas neapstiprinājās (3.13. tabula). AKPIE grupā starp visiem mikroorganismiem *S. aureus* bija neatkarīgi saistīts ar augstāku intrahospitālo mirstību (3.14. tabula). Trīs gadu periodā AKNIE grupā tika novērota labāka izdzīvotība, tomēr netika konstatēta statistiska nozīmība ( $p = 0,509$ ). Izdzīvotības līknes atspoguļotas 3.2. attēlā.

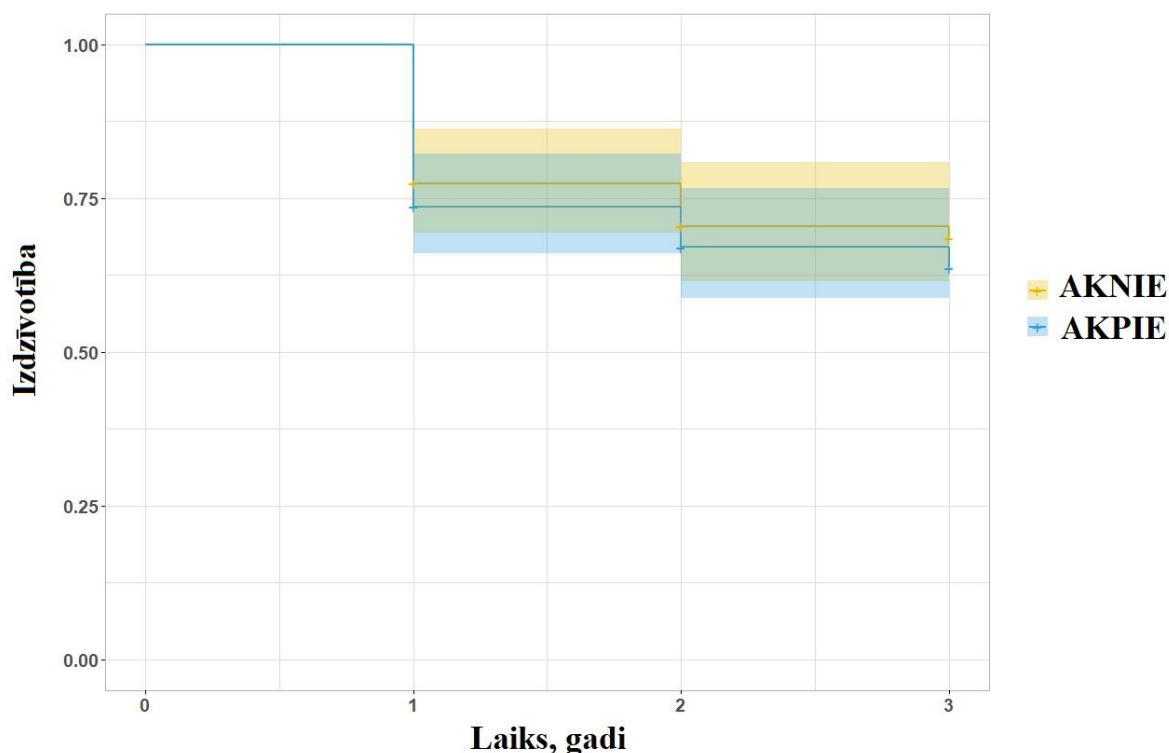
3.13. tabula

**Intrahospitālās mirstības prognostiskie faktori vienfaktora un daudzfaktoru loģistiskās regresijas analīzēs**

Parametrs	Vienfaktora IA (95 % TI)	p vērtība	Daudzfaktoru pielāgotā IA (95 % TI)	p vērtība
Mikroorganisma konstatēšana	2,873 (1,011–8,167)	0,048	1,166 (0,319–4,272)	0,816
Vecums	1,024 (0,991–8,167)	0,155	1,027 (0,975–1,082)	0,319
ĶMI	1,034 (0,946–1,129)	0,466	1,034 (0,912–1,173)	0,599
CRO	1,003 (0,995–1,011)	0,490	1,002 (0,991–1,014)	0,696
Prokalcitonīns	1,036 (1,004–1,068)	0,025	1,033 (0,999–1,068)	0,057
Leikocītu skaits	1,029 (0,924–1,146)	0,608	1,066 (0,909–1,249)	0,433
Embolija	1,586 (0,621–4,048)	0,335	1,311 (0,368–4,673)	0,677
Intravenozo narkotiku lietošana	0,497 (0,063–3,937)	0,508	1,202 (0,087–16,600)	0,891
Vārstuļu protēžu endokardīts	2,157 (0,810–5,742)	0,124	0,849 (0,024–29,994)	0,928
Natīvo vārstuļu endokardīts	0,464 (0,174–1,234)	0,124	0,840 (0,025–27,790)	0,922

**Konstatētie mikroorganismi kā prognostiskie faktori intrahospitalajai mirstībai vienfaktora un daudzfaktoru loģistiskās regresijas analīzēs**

Mikroorganisms	Vienfaktora IA (95 % TI)	p vērtība	Daudzfaktoru pielāgotā IA (95 % TI)	p vērtība
<i>E. faecalis</i>	2,325 (0,527–10,246)	0,265	1,310 (0,356–4,824)	0,685
<i>Streptococcus spp.</i>	1,788 (0,422–7,587)	0,430	1,073 (0,295–3,910)	0,915
<i>S. aureus</i>	4,408 (1,406–13,821)	0,011	3,332 (1,268–8,751)	0,015
Cits mikroorganisms	1,302 (0,243–6,962)	0,758	0,678 (0,149–3,089)	0,615



3.2. attēls. Trīs gadu izdzīvotība operētiem asiņu kultūras pozitīva un negatīva infekciozā endokardīta pacientiem

### Pētījuma rezultātu kopsavilkums

1. Nav statistiski nozīmīgu atšķirību starp AKPIE un AKNIE grupām attiecībā uz intrahospitalālo mirstību, hospitalizācijas un intensīvās terapijas nodaļā pavadīto laiku, kā arī trīs gadu mirstību.
2. Lai gan AKPIE pacientiem ir augstāka slimnīcas un trīs gadu mirstība nekā AKNIE pacientiem, AKPIE nav neatkarīgi saistīts ar augstāku mirstību daudzfaktoru analīzē.
3. AKPIE grupā bija augstākas prokalcitonīna līmeņa vērtības, tomēr paaugstināts prokalcitonīna līmenis neatklāja neatkarīgu saistību ar mirstību daudzfaktoru analīzē.



4. Visbiežāk sastopamais mikroorganisms AKPIE grupā bija *S. aureus*. Tas bija saistīts ar neatkarīgi augstāku intrahospitālo mirstību (RR koeficients 3,332 un 4,408 vienfaktora un daudzfaktoru analīzē), salīdzinot ar citiem slimības izraisītājiem mikroorganismiem.

### 3.3. Biežāko infekciozā endokardīta ierosinātāju mikroorganismu klīniskās gaitas un iznākuma atšķirības kardiķirurģiskajiem pacientiem

Šajā pētījumā tika analizētas 253 pacientu vēstures. Viņi tika operēti PSKUS IE dēļ laika posmā no 2016. gada 1. janvāra līdz 2020. gada 1. septembrim. Indikācijas operācijai tika noteiktas, vadoties no 2015. gada Eiropas Kardiologu asociācijas Infekciozā endokardīta vadīšanas vadlīnijām (2.1. tabula). Atšķirībā no iepriekšējā pētījuma, kur tika salīdzināti iznākumi AKNIE, šajā pētījumā tika analizēta zināmu biežāko IE ierosinātāju ietekme uz iznākumu. No 253 pacientu vēsturēm 44 gadījumos IE izraisošais mikroorganisms bija *S. aureus*, 35 gadījumos *Streptococcus spp.*, 33 gadījumos *E. faecalis* un koagulāzes negatīvie stafilokoki 32 gadījumos. Kopumā 79,9 % pacientu bija natīvā vārstuļa endokardīts un 20,3 % – vārstuļu protēžu endokardīts. Vairums natīvā vārstuļa endokardīta gadījumu izraisīja *Streptococcus spp.*, turpretī vārstuļu protēžu endokardīta gadījumos visbiežākie izsaucēji bija koagulāzes negatīvie stafilokoki (KoNS) (3.15. tabula). Līdz ar to arī vairāk perivalvulāras infekcijas izplatības bija vērojama tieši KoNS grupā. *Streptococcus spp.* grupā tika novērots statistiski ticami vairāk smagu aortālu regurgitāciju gadījumu, kā arī fistulu veidošanās starp sirds dobumiem. Tāpat tika pārbaudīta arī vairāku citu ehokardiogrāfisko parametru saistība ar kādām no mikroorganismu grupām, tomēr statistiski ticamas atšķirības netika konstatētas (3.16. tabula).

3.15. tabula

Dažādu IE ierosinātāju mikroorganismu pacientu raksturlielumi

Parametrs	<i>S. aureus</i> , N = 44	<i>Streptococcus</i> <i>spp.</i> , N = 35	<i>E. faecalis</i> , N = 33	KoNS, N = 32	p vērtība
Vecums, gadi	58,5 (45,0–66,0)	50,0 (37,0–65,5)	65,0 (56,0–73,0)	56,0 (48,2–69,2)	<b>0,037</b>
Dzimums, vīriešu, %	77,3	85,7	87,9	68,8	0,195
ĶMI, vidēji, kg/m <sup>2</sup>	24,7 (21,1–27,1)	24,7 (22,1–27,6)	24,4 (23,5–29,3)	26,6 (24,7–30,9)	<b>0,031</b>
<i>EuroSCORE II</i> risks, vidēji, %	4,7 (2,2–7,0)	2,9 (2,0–4,9)	3,1 (2,0–8,0)	4,4 (2,1–10,9)	0,237
Natīvā vārstuļa endokardīts, %	82,5	94,1	78,1	62,5	0,015
Sirds kreisās puses endokardīts, %	80,5	97,1	96,9	90,6	0,059

**Dažādu IE ierosinātāju mikroorganismu pacientu ehokardiogrāfijas parametri un vārstu  
disfunkcijas veids**

Parametrs	<i>S. aureus</i> , N = 44	<i>Streptococcus</i> <i>spp.</i> , N = 35	<i>E. faecalis</i> , N = 33	KoNS, N = 32	p vērtība
Veikta TEE, %	68,4	75,0	79,3	85,7	0,414
Veģetāciju garums, mm	16,0 (12,5–20,0)	14,0 (10,0–17,0)	15,0 (13,0–22,5)	15,0 (10,0–20,0)	0,250
Perivalvulāra infekcijas izplatība, %	15,8	27,3	3,4	32,3	<b>0,024</b>
Fistula starp sirds dobumiem, %	2,7	15,2	0,0	3,2	<b>0,049</b>
Smaga (3.–4. pakāpes) aortāla regurgitācija	20,5	57,1	27,3	28,1	<b>0,004</b>
Smaga (3.–4. pakāpes) mitrāla regurgitācija	20,5	28,6	33,3	18,8	0,455
Smaga (3.–4. pakāpes) trikuspidāla regurgitācija	15,9	2,9	9,1	6,2	0,235
Prevalējoša aortāla stenoze	6,8	8,6	12,1	21,9	0,249
Prevalējoša mitrāla stenoze	2,3	0,0	9,1	12,5	0,074
IF, %	59,0 (52,0–60,0)	56,5 (54,2–60,0)	58,0 (50,0–65,0)	60,0 (55,0–65,0)	0,541
EDD, mm	53,0 (50,0–58,0)	56,5 (52,0–59,8)	53,0 (50,0–59,5)	53,0 (48,0–58,0)	0,272
ESD, mm	35,0 (31,0–38,0)	37,0 (33,0–38,8)	34,5 (30,5–37,2)	35,0 (31,0–9,0)	0,275
IVS, mm	11,0 (9,5–13,0)	10,0 (9,0–12,0)	10,0 (9,0–11,5)	11,0 (9,0–14,0)	0,496
TAPSE, mm	22,0 (18,5–25,5)	21,0 (18,0–24,0)	21,0 (17,5–23,5)	20,0 (18,5–24,2)	0,748
LAVI, ml/m <sup>2</sup>	45,0 (31,0–59,0)	43,0 (37,0–51,0)	38,0 (31,8–55,2)	47,0 (36,2–57,0)	0,817
Ascendējošās aortas diametrs, mm	34,0 (32,2–35,8)	37,0 (35,0–44,0)	35,0 (33,2–37,5)	35,0 (31,0–37,0)	0,245

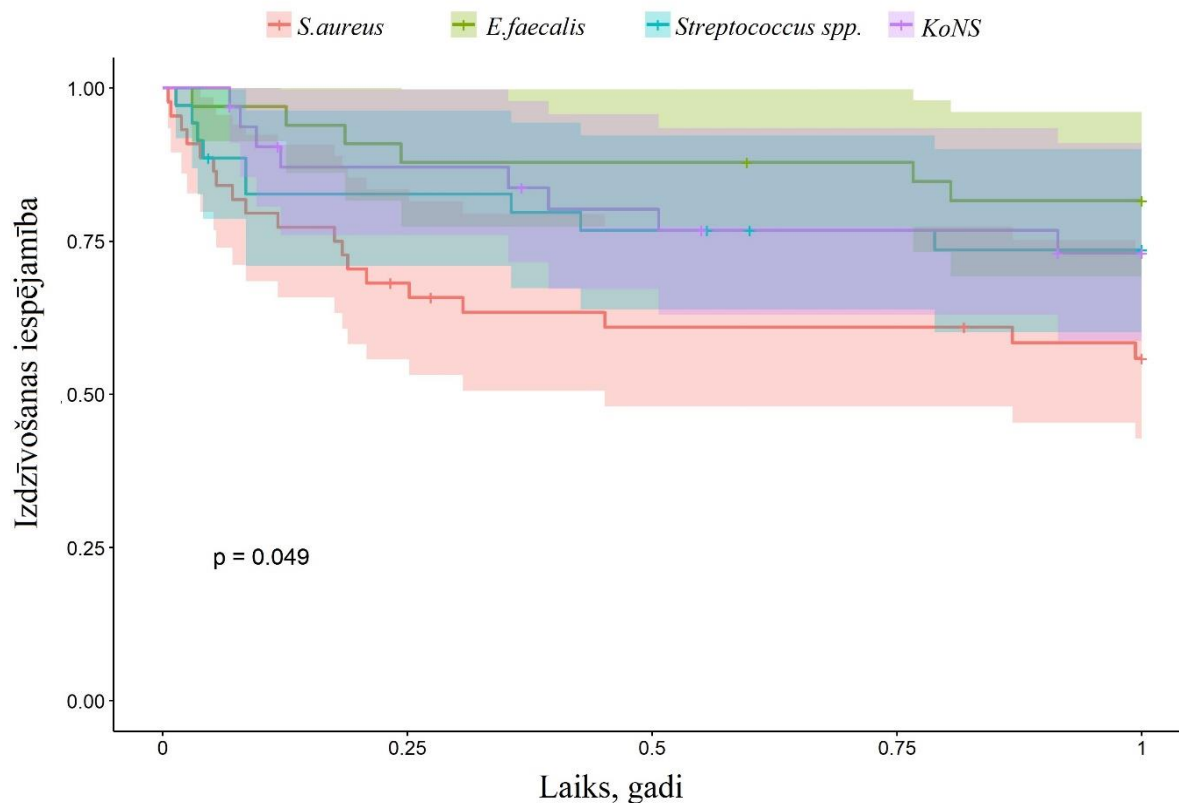
Emboliskās komplikācijas tika novērotas visu mikroorganismu grupās. Visvairāk tās tika novērotas *S. aureus* grupā un sekojoši *E. faecalis*, KoNS, *Streptococcus spp.* grupās. Biežāk tās tika konstatētas CNS, liesā un nierēs. Īpaši izceļams fakts, ka *S. aureus* IE bija saistīts ar statistiski ticami biežāku emboliju CNS ( $p = 0,005$ ), turklāt tā tika novērota 25 % visu pacientu. Starp mikroorganismu grupām netika novērots ilgāks hospitalizācijas un intensīvās terapijas nodaļā pavadītais laiks, kā arī netika vērota atšķirība intrahospitalās mirstības rādītājos

(3.17. tabula). Tomēr gan mirstībā pēc viena, gan mirstībā pēc trim gadiem tika konstatētas statistiski nozīmīgas atšķirības starp mikroorganismu grupām, kur *S. aureus* grupā mirstība bija augstākā un *E. faecalis* grupā – zemākā (3.3. un 3.4. attēls).

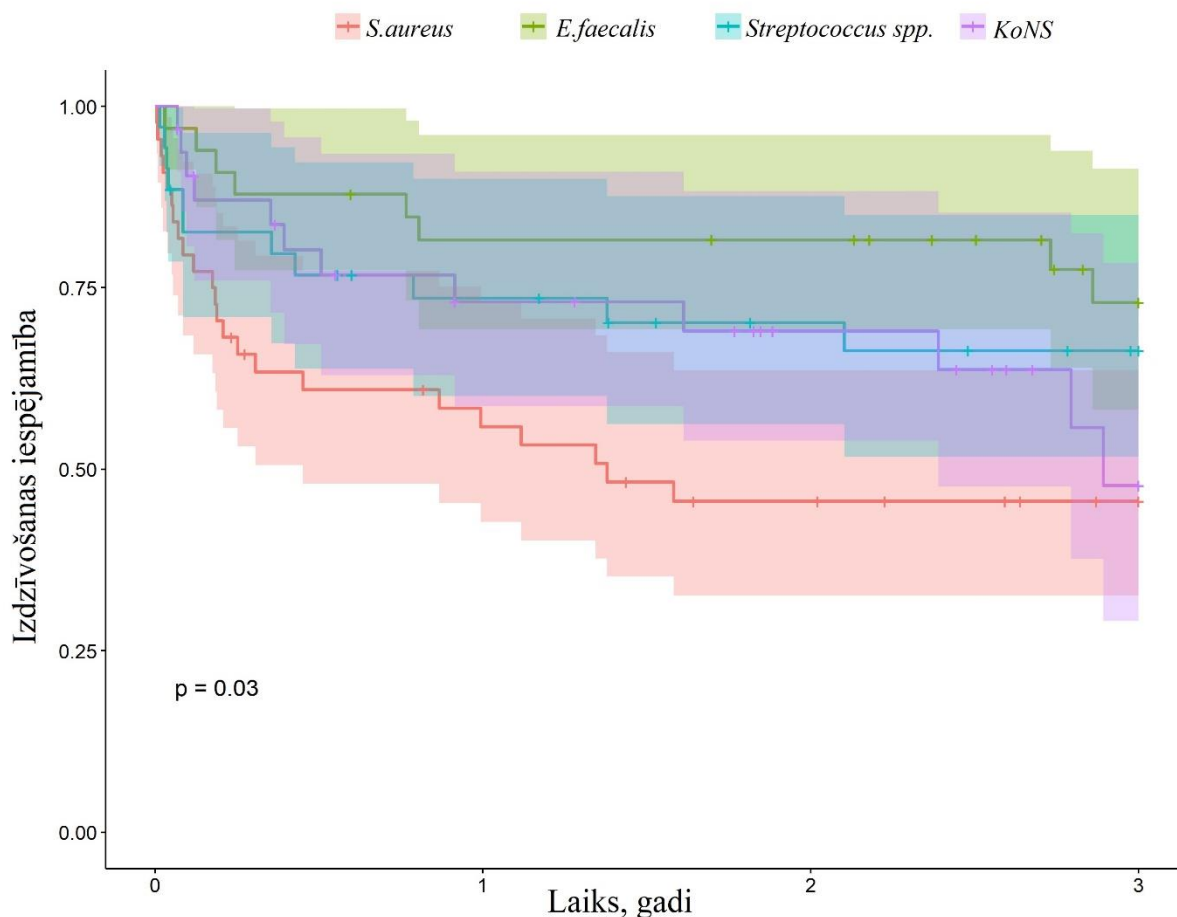
3.17. tabula

Dažādu IE ierosinātāju mikroorganismu pacientu raksturlielumi

Parametrs	<i>S. aureus</i> , N = 44	<i>Streptococcus</i> <i>spp.</i> , N = 35	<i>E. faecalis</i> , N = 33	KoNS, N = 32	p vērtība
Laiks slimnīcā, dienas, vidēji	28,0 (19,0–42,0)	23,0 (15,5–31,0)	26,0 (17,0–37,0)	27,5 (22,0–35,0)	0,310
Laiks ITN, dienas, vidēji	3,0 (1,0–9,8)	2,0 (1,0–5,0)	2,0 (1,0–4,0)	2,0 (1,0–4,0)	0,230
Emboliskās komplikācijas, %	42,5	8,8	34,4	15,6	<b>0,003</b>
Embolija CNS, %	25,0	0,0	18,8	9,4	<b>0,005</b>
Embolija liesā, %	12,5	8,8	15,6	9,4	0,809
Embolija nierēs, %	7,5	0,0	12,5	6,2	0,203
Intrahospitālā mirstība, %	22,7	17,6	9,4	9,4	0,324



3.3. attēls. Kaplāna-Meiera izdzīvotības līknes dažādu mikroorganismu grupu pacientiem vienu gadu pēc operācijas IE dēļ



3.4. attēls. Kaplāna-Meiera izdzīvotības līknes dažādu mikroorganismu grupu pacientiem trīs gadus pēc operācijas IE dēļ

#### Pētījuma rezultātu kopsavilkums

1. *S. aureus* un *E. faecalis* IE pacientiem bieži tika novērota embolija.
2. Atšķirībā no *E. faecalis* *S. aureus* ir saistīts ar sliktāku ilgtermiņa prognozi pēc sirds operācijas IE pacientiem.
3. Perivalvulāras komplikācijas visbiežāk ir saistītas ar koagulāzes negatīvo stafilokoku klātbūtni un vārstuļu protēžu IE.

#### 3.4. 16S rRNS nākamās paaudzes sekvenčēšanas lietojums infekciozā endokardīta pacientu vārstuļu paraugos

Šajā pētījumā tika iekļauti pieaugušo populācijas pacienti ar IE, kuri tika operēti PSKUS IE dēļ laika posmā no 2020. gada 1. jūnija līdz 2022. gada 31. augustam. Indikācijas operācijai tika noteiktas, vadoties no 2015. gada Eiropas Kardiologu asociācijas Infekciozā endokardīta vadīšanas vadlīnijām (2.1. tabula). Pētījums tika apstiprināts Latvijas Centrālās medicīnas ētikas komitejā (lēmums Nr. 5070) un veikts saskaņā ar Helsinku deklarāciju. Katram pacientam pirms iekļaušanas pētījumā tika dota informētas piekrišanas veidlapa. No katra pacienta tika paņemtas asinis un nosūtītas uz slimnīcas mikrobioloģijas laboratoriju asiņu kultūras noteikšanai. Sirds operācijas laikā izņemtie vārstuļi tika nosūtīti mikrobioloģiskai

kultūrai un analīzei ar 16S rRNS nākamās paaudzes sekvencēšanas tehnoloģiju (16S rRNS NGS). Operācijas materiāla iegūšana un analizēšana ar nākamās paaudzes sekvencēšanas (NGS) tehnoloģijas palīdzību tika sīkāk analizēta šī darba 2.2. nodaļā. No pacientu medicīniskajām vēsturēm iegūti medicīniskie dati, tai skaitā pacientu slimību anamnēze, laboratorijas analīzes un vizuālo diagnostikas izmeklējumu rezultāti.

Pētījumā piedalījās 46 pacienti. Starp šiem pacientiem asiņu kultūra bija pozitīva 28 gadījumos (60,1 %), savukārt vārstuļu uzņēmumi tikai četros gadījumos (8,7 %). Asiņu kultūras negatīvais IE tika konstatēts 18 pacientiem (39,1 %). NGS metode, kurā konstatētās bakteriālās nukleīnskābes relatīvais daudzuma līmenis bija > 90 % (līdz ar to pārliecinoši norādīja uz cēloņsakarīgo patogēnu), tika konstatēta 29 pacientiem (63,0 %). Visi AKPIE pacientu mikroorganismi, kas tika noteikti ar asiņu vai vārstuļu uzņēmumiem, tika konstatēti arī ar 16S rRNS NGS metodi. Mikroorganismu relatīvais DNS daudzums bija noteikts robežās no 22,6 % līdz 100 %. 16S rRNS NGS tehnoloģija īpaši pierādīja savu lietderību gadījumos, kad asiņu kultūra bija negatīva, atklājot cēloņsakarīgo patogēnu 12 gadījumos (66,7 %). Negaidīts atradums bija augstā *Bartonella spp.* incidence AKNIE gadījumā. Tā tika konstatēta 11 no 18 AKNIE gadījumiem. *Bartonella spp.* gadījumos bija īpaši augsts mikroorganisma relatīvais DNS daudzums, kur astoņos gadījumos tas bija 100 % un divos attiecīgi 95,4 % un 99,6 %, līdz ar to pārliecinoši norādot uz patoloģiju izraisošo mikroorganismu. Citu mikroorganismu gadījumā relatīvais DNS daudzums 100 % tika konstatēts vien 10,9 % gadījumu, turpretī *Bartonella spp.* gadījumos – 72,7 %. Etioloģija netika konstatēta sešos gadījumos (8,7 %), jo šiem pacientiem bija negatīvi asiņu un vārstuļu uzņēmumu rezultāti, turpretī 16S rRNS NGS analīzes uzrādīja multiplu mikroorganismu DNS piejaukumus, kur viena mikroorganisma relatīvais DNS daudzums svārstījās robežās no 31,5 % līdz 71,7 %, tādējādi izteikties par IE izraisošo mikroorganismu nav iespējams. *Bartonella spp.* mikroorganismu izraisīta endokardīta gadījumā pacientiem bija zemāka kreisā kambara IF, ievērojami zemāks leikocītu un trombocītu skaits, augstāks glikozes, B tipa nātrijurētiskā peptīda (BNP) un kreatinīna līmenis (3.18. tabula). Tāpat izceļams, ka *Bartonella spp.* endokardīta gadījumā pacientiem bija ievērojami biežāka alkoholisma anamnēze. Tādi iznākumi kā intrahospitāli vai intensīvās terapijas nodaļā pavadītais laiks, kā arī intrahospitālā mirstība statistiski ticami *Bartonella spp.* pacientiem neatšķīrās.

**Ne-Bartonella spp. un Bartonella spp. IE pacientu raksturlielumu, laboratorisko rādītāju un klīnisko iznākumu salīdzinājums**

<b>Parametrs</b>	<b>Ne-Bartonella spp. IE, N = 35</b>	<b>Bartonella spp. IE, N = 11</b>	<b>p vērtība</b>
Vecums, gadi, vidēji (SN)	55,6 (14,8)	54,6 (9,8)	0,8217
Dzimums, vīriešu, N (%)	26 (74,3)	10 (9,9)	pY = 0,4551
EuroSCORE II riska indekss, %, mediāna (SA)	6,5 (3,6–14,3)	6,3 (3,6–12,6)	pMW = 0,9442
IE mirstības riska indekss, %, mediāna (SA)	30,2 (13,6–41,1)	30,2 (21,5–34,9)	pMW = 0,7988
Charlson komorbiditātes indekss, punkti, mediāna (SA)	2,5 (1–5)	4 (3–5)	pMW = 0,1868
Cukura diabēts, N (%)	8 (22,9)	2 (18,2)	pY = 0,9274
Alkoholisms anamnēzē, N (%)	5 (14,3)	7 (63,6)	pY = 0,0124
Intravenozo narkotiku lietošanas anamnēze, N (%)	3 (8,6)	0 (0,0)	pY = 0,7609
Natīvā vārstuļa IE, gadījumi, N (%)	27 (77)	11 (100)	0,084
Vārstuļu protēžu IE, gadījumi, N (%)	8 (21)	0 (0)	0,168
Veģetāciju garums, mm, mediāna (SA)	12,0 (0,0–18,0)	13,0 (12,0–22,0)	pMW = 0,1644
Embolija, N (%)	8 (22,9)	3 (27,3)	pY = 0,9158
Embolija CNS, N (%)	7 (20,0)	2 (18,2)	pY = 0,7618
Embolija liesā, N (%)	1 (2,9)	1 (9,1)	pY = 0,9706
Embolija nierēs, N (%)	2 (5,7)	0 (0,0)	pY = 0,9706
Kreisā kambara izsviedes frakcija, %, mediāna (SN)	56,4 (7,8)	50,6 (9,4)	0,0481
Labā kambara sistoliskais spiediens, mm/Hg, vidēji (SA)	37,5 (30,0–56,3)	46,5 (43,8–56,3)	pMW = 0,0627
Leikocītu skaits 109 ml, vidēji (SA)	7,6 (5,8–9,7)	5,2 (4,2–6,0)	pMW = 0,0038
Trombocītu skaits 109 ml, vidēji (SA)	241,0 (186,0–325,0)	174,0 (82,0–218,0)	pMW = 0,0185
Eritrocītu skaits 109 ml, vidēji (SA)	3,7 (3,2–4,4)	3,6 (3,1–4,1)	pMW = 0,1987
Hemoglobīns g/L, vidēji (SN)	110,4 (22,2)	99,1 (14,1)	0,1205
CRO līmenis pirms operācijas mg/L, mediāna (SA)	32,8 (7,5–55,1)	33,5 (6,6–57,0)	pMW = 0,7837
CRO līmenis 2. pēcoperācijas dienā, mg/L, mediāna (SA)	185,8 (133,9–228,8)	157,8 (94,2–220,6)	pMW = 0,2979
CRO līmenis 4. pēcoperācijas dienā, mg/L, mediāna (SA)	110,0 (72,7–159,3)	118,7 (104,8–215,1)	pMW = 0,4110
CRO līmenis 6. pēcoperācijas dienā, mg/L, mediāna (SA) vidēji	57,6 (31,0–100,5)	71,9 (46,3–101,3)	pMW = 0,4572
Prokalcitonīna līmenis ng/ml, mediāna (SA)	0,12 (0,08–0,28)	0,22 (0,07–0,38)	pMW = 0,4911
BNP līmenis, ng/ml, mediāna (SA)	429,8 (136,4–960,6)	1523,0 (692,9–3708,0)	pMW = 0,0002
Glikozes līmenis, mkmol/L, mediāna (SA)	5,4 (4,8–6,7)	4,7 (4,3–5,6)	pMW = 0,0375
Kreatinīna līmenis mkmol/L, mediāna (SA)	77,0 (64,0–89,0)	104,0 (78,0–283,0)	pMW = 0,0071

Parametrs	<i>Ne-Bartonella spp.</i> IE, N = 35	<i>Bartonella spp.</i> IE, N = 11	p vērtība
Asiņu zudums pirmajā pēcoperācijas dienā, ml, vidēji (SA)	372,5 (250,0–630,0)	420,0 (301,3–930,0)	pMW = 0,3463
Resternotomija, gadījumi, N (%)	6 (17,1)	3 (27,3)	pY = 0,7618
Mākslīgās plaušu ventilācijas ilgums, stundas, mediāna (SA)	11,5 (8,0–72,0)	14,0 (9,0–25,0)	pMW = 0,7533
Vazopresoru lietošana, N (%)	23 (65,7)	8 (72,7)	pY = 0,9489
Beta-agonistu lietošana, N (%)	13 (37,1)	7 (63,6)	pY = 0,2311
Dienu skaits slimnīcā, mediāna (SA)	31,0 (25,0–48,0)	37,0 (19,0–44,0)	pMW = 0,5544
Dienu skaits intensīvās terapijas nodaļā, mediāna (SA)	3,0 (1,8–9,0)	3,0 (2,0–8,0)	pMW = 0,9106
Intrahospitālā mirstība, N (%)	4 (11,4)	0 (0,0)	pY = 0,5755

\* p – p vērtības no nepāru t-testa, pMW – p vērtības no Manna-Vitnija U-testa, pY – p vērtības no hī kvadrāta testa ar Jeitsa (*Yates*) korekciju.

### Pētījuma rezultātu kopsavilkums

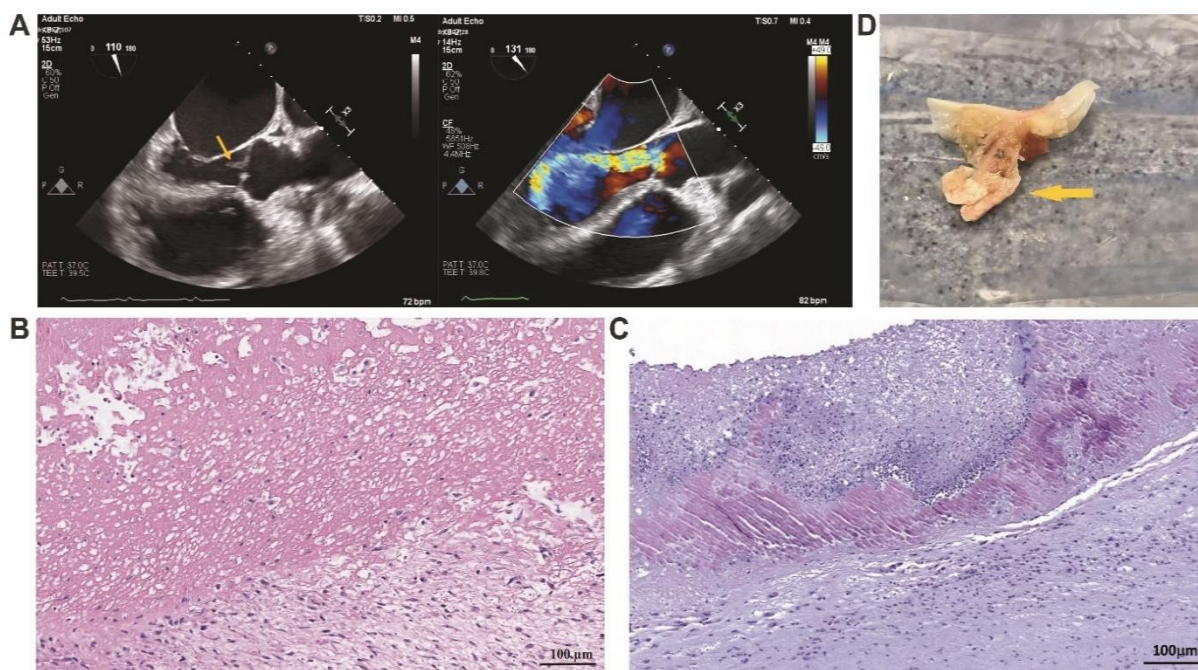
- 16S rRNS NGS ir noderīga tehnoloģija, lai diagnosticētu slimības izraisītāju, īpaši AKNIE gadījumos.
- Starp AKNIE ierosinātajiem *Bartonella spp.* veido lielāko daļu.
- Bartonella spp.* pacientiem biežāk vērojama alkoholisma anamnēze, augstāki kreatinīna un B tipa nātrijurētiskā peptīda rādītāji, zemāks glikozes līmenis, kā arī leukocītu un trombocītu skaits.

### 3.5. Morfoloģiskās atrades un neitrofilo leukocītu aktivācijas salīdzinājums *Bartonella spp.* un *ne-Bartonella spp.* infekciozā endokardīta gadījumos

Kopumā pētījumā tika iegūti vārstuļu paraugi no 10 *Bartonella spp.* IE pacientiem, nejauši atlasītiem 12 *ne-Bartonella spp.* IE pacientiem un 23 kontroles grupas pacientiem. *Ne-Bartonella spp.* grupā tika iekļauti pacienti, kuru IE izraisošie mikroorganismi bija *S. aureus* vienam pacientam, *E. faecalis* diviem pacientiem, koagulāzes negatīvie stafilokoki trim pacientiem un *Streptococcus spp.* sešiem pacientiem. Kontroles grupa bija kardiķirurgiskie pacienti bez IE diagnozes, kuri tika operēti smagas deģeneratīvas aortālā vai mitrālā vārstuļa nepietiekamības dēļ. Tika piemeklēti atbilstoša vecuma un patoloģijas skartā vārstuļa pacienti (attiecīgi – 16 aortālie un septiņi mitrālie vārstuļi deģeneratīvas kaites dēļ).

### 3.5.1. Histopatoloģiskā un histokīmiskā atrade

Histopatoloģiski *Bartonella spp.* pacientu vārstuļu materiālā tika novērota fibroblastiska proliferācija un mononukleāro šūnu pārsvars (3.5. B–C attēls). Tika konstatētas arī fibrotiskas izmaiņas un dažkārt kalcifikācija. Veģetāciju paraugos, kas iegūti no pacientiem ar *Bartonella spp.* izraisītu IE, tika biežāk atklātas sūkļveidīgas, eozinofilas masas. Masas sastāvēja no fibrīna tīkla, un tajā bija mazs imūno šūnu skaits. Tajās bija vērojams neliels mikroorganismu daudzums. Līdzīgi eozinofilās veģetāciju masas tika konstatētas paraugos, kas iegūti no pacientiem ar ne-*Bartonella spp.* izraisītu IE, tomēr veģetāciju masas porainais izskats bija mazāk akcentēts nekā tas, kas parādījās *Bartonella spp.* izraisītā IE gadījumos. Ne-*Bartonella spp.* IE gadījumā vizuāli veģetāciju masā bija vērojams lielāks imūno šūnu un mikroorganismu skaits.



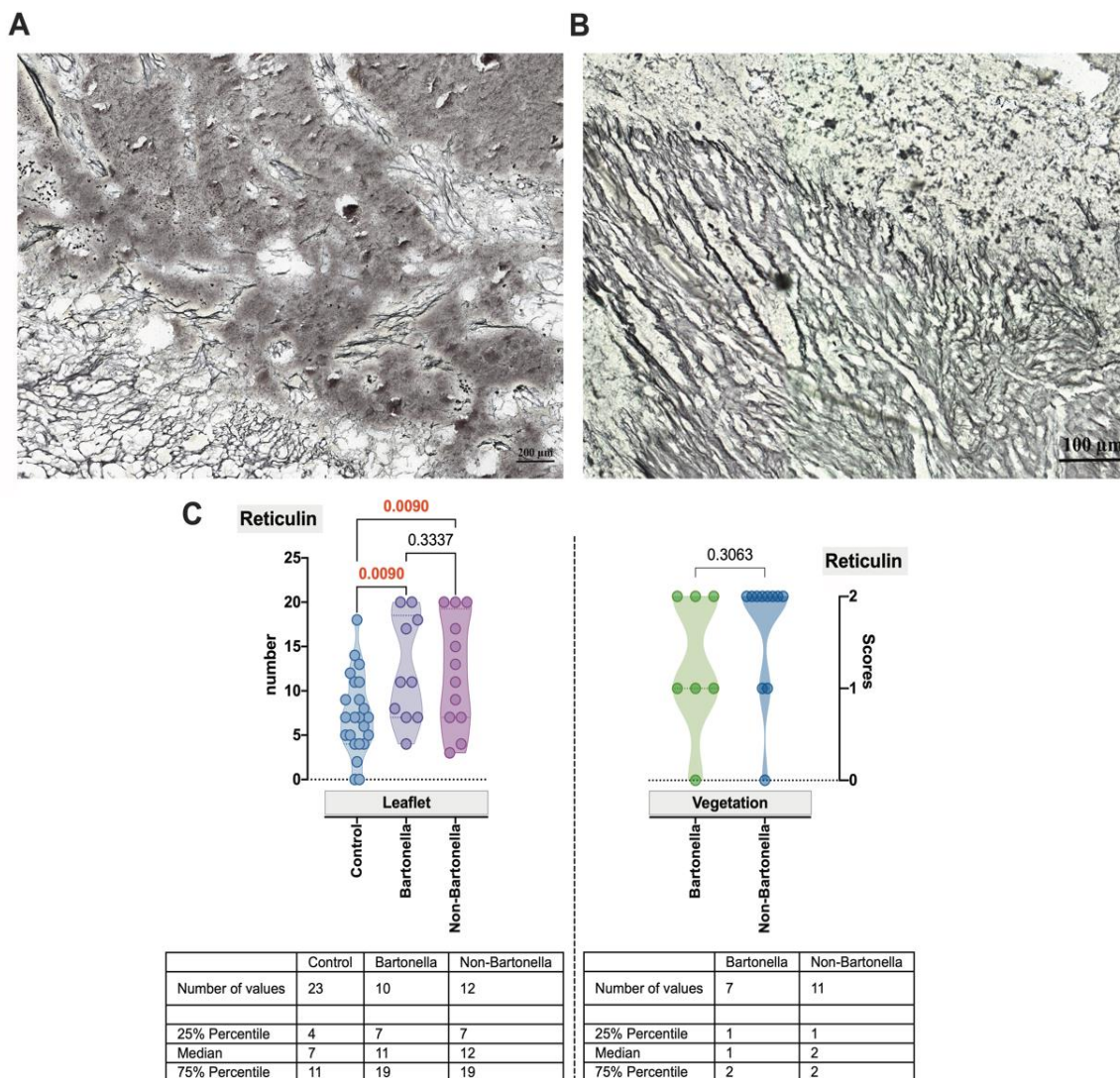
### 3.5. attēls. Ehokardiogrāfijas, makroskopiskā un histopatoloģiskā atrade

*Bartonella spp.* izraisīta aortas vārstuļa endokardīta transezofageālā ehokardiogrāfija (A). Attēla kreisajā pusē, kas apzīmēts ar bultiņu, ir attēlota veģetācija, kas piestiprinājusies aortas vārstuļa lapiņai, savukārt labajā pusē redzamajā attēlā, izmantojot krāsu doplerogrāfiju, vizualizējama izteikta aortas vārstuļa nepietiekamība. Zemākajos attēlos ir redzami vārstuļu veģetāciju histopatoloģiskie izmeklējumi rajonos, kur tās piestiprinās vārstuļu lapiņai *Bartonella spp.* izraisīta IE gadījumos. Veģetācijas apgabalā vērojams amorfs materiāls ar sūkļveida izskatu, kurā vērojamas arī imūnās šūnas. Tāpat arī vērojami fibroblasti un mononukleārās šūnas (B). Ne-*Bartonella spp.* izraisītā IE gadījumos vērojams vairāk neitrofilo leukocītu, makrofāgu un baktēriju, kā arī fibrīna šķiedru (C). H&E krāsojums. Mērogs: 100 μm. Makroskopiski izgrieztas aortas vārstuļa lapiņas ar veģetāciju izskatu. Bultiņa norāda uz veģetāciju, kas piestiprinājusies aortas vārstuļa lapiņai (D).

Pēc tam tika lietota histokīmija, lai vizualizētu lielāko daļu sirds vārstuļu saistaudu komponentu. Lai vienlaikus marķētu kolagēna retikulārās šķiedras un uzlabotu baktēriju vizualizāciju, tika izmantots retikulīna sudraba pārklājuma komplekts. *Bartonella spp.* IE gadījumos vārstuļu lapiņās retikulārās šķiedras veidoja tīklu un aptvēra amorfu masu veģetāciju



tuvumā (3.6. A attēls). *Ne-Bartonella spp.* IE gadījumos tika novērots nedaudz paralēlāks retikulāro šķiedru izvietojums (3.6. B attēls). Tika konstatēts, ka šim izkārtojumam ir statistiski nozīmīga atšķirība, salīdzinot ar to, kas apstiprināta kontroles paraugu vārstuļu lapiņām, bet ne veģetācijām (3.6. C attēls). Lietojot sudraba impregnēšanu, tika novērotas melnas krāsas mikroorganismu kopas.



### 3.6. attēls. Histokīmiskā atrade

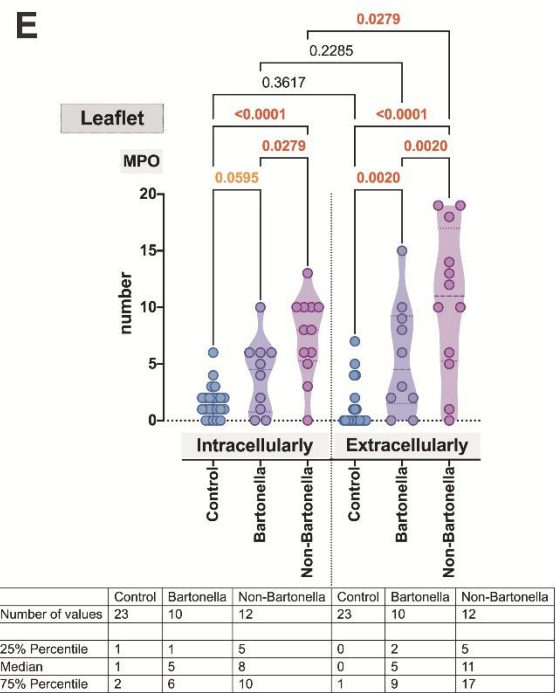
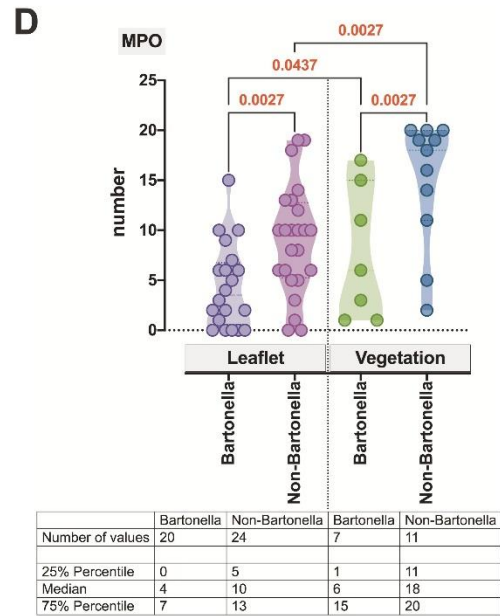
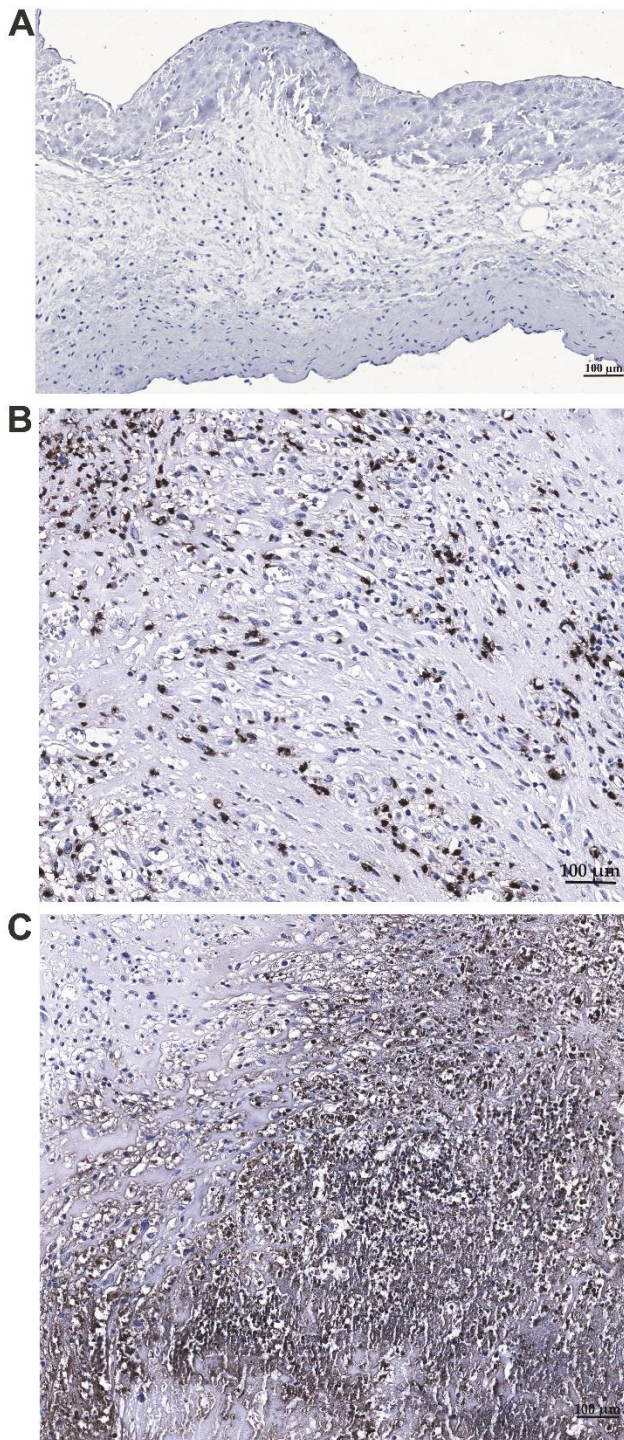
Reprezentatīvs attēls, kurā redzamas baktēriju kopas, kas atrodamas veģetācijā *Bartonella spp.* (A) un *ne-Bartonella spp.* (B) IE gadījumos. Sudraba krāsojums rada melnu krāsu *Bartonella spp.* baktēriju grupās. Redzams arī metāliskais tonis, kuru rada sudrabs, izceļot retikulārās šķiedras vārstuļa lapiņā. Mērogs: 100 μm.

Histokīmiski iegūtie un vērtētie dati no *Bartonella spp.* un *ne-Bartonella spp.* IE pacientu sirds vārstuļu lapiņām, kas ir salīdzinātas ar kontroles grupu pacientu vārstuļu lapiņām (C: diagramma kreisajā pusē). Diagrammas labajā pusē vērojams datu salīdzinājums no *Bartonella spp.* un *ne-Bartonella spp.* IE pacientu veģetācijām (C: laukums pa labi). Katrs punkts apzīmē vienu datu punktu. Saīsinājumi: *Control* – kontroles grupa; *Bartonella* – *Bartonella spp.* IE pacientu grupa; *Non-Bartonella* – *ne-Bartonella spp.* izraisīta IE pacientu grupa.

### 3.5.2. Neitrofilo leukocītu aktivācijas marķieru imūnhistoķīmiskais novērtējums sirds vārstuļu lapiņās un veģetācijās

Lai izpētītu dažādu neitrofilo leukocītu granulu, citosolisko enzīmu un histonu ekspresiju bojātajos sirds vārstuļu audos un veģetācijās, gan *Bartonella spp.*, gan *ne-Bartonella spp.* izraisītā IE gadījumā tika izmantotas imūnhistoķīmiskās metodes. Neitrofilo leukocītu azurofilo granulu komponenti, tostarp baktericīdie enzīmi, kā neitrofilu elastāze (NE) un mieloperoksidāze (MPO), kā arī citosoliskais proteīns kalprotektīns un šūnas histons H3, tika novērtēti gan intracelulāri, gan ekstracelulāri. Vārstuļu lapiņas un veģetācijas tika pārbaudītas atsevišķi un salīdzinātas ar kontrolgrupu.

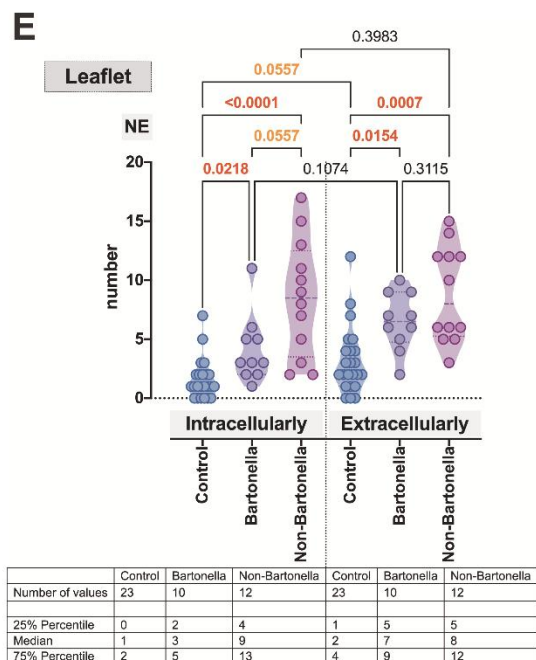
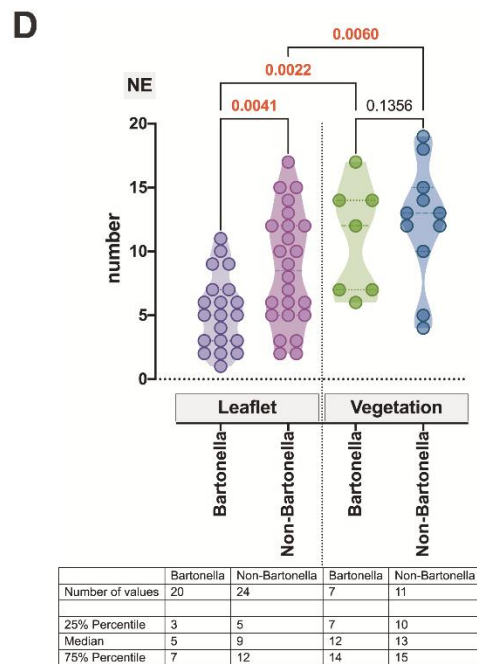
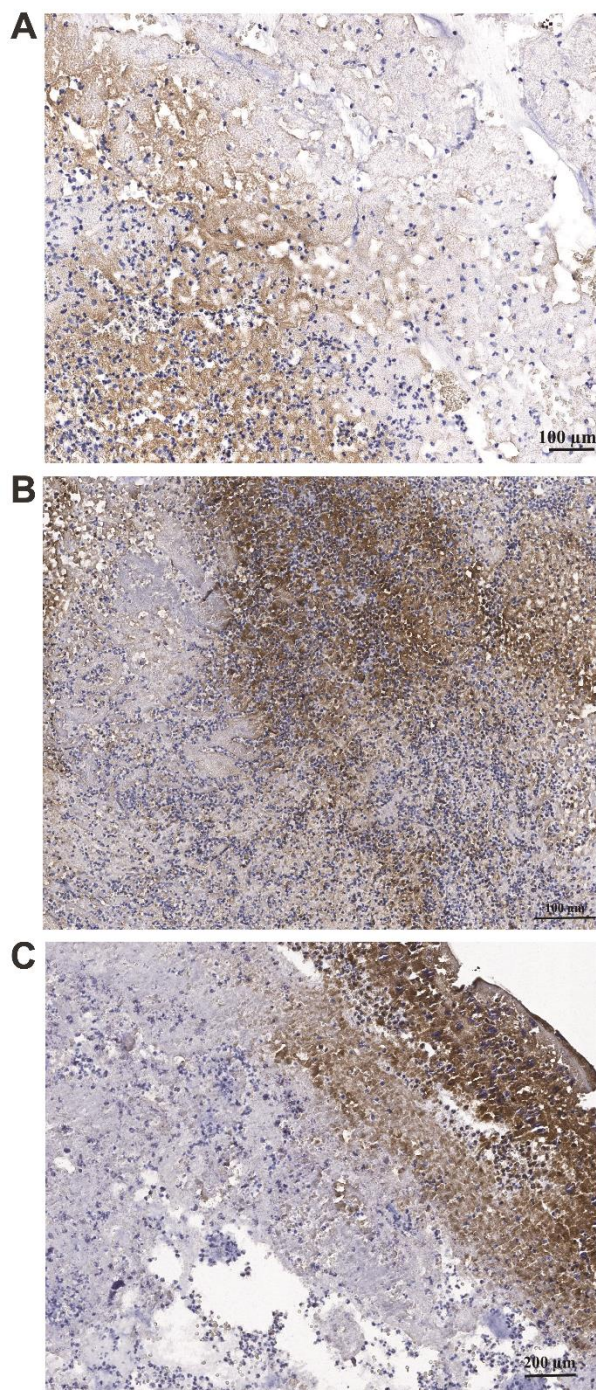
Bija novērojama izteikta atšķirība MPO ekspresijā starp *Bartonella spp.* un *ne-Bartonella spp.* IE. Anti-MPO antivielu ļoti izteikti iezīmēja mērķa šūnas, turpretī *ne-Bartonella spp.* IE gadījumā krāsojums bija difūzāks un vairāk lokalizēts ekstracelulāri (3.7. A–E attēls). Gan *Bartonella spp.*, gan *ne-Bartonella spp.* grupā dažas šūnas iezīmējās jaunveidoto asinsvadu lūmenā. MPO ekspresija bija statistiski ticami izteiktāka veģetācijās *Bartonella spp.* ( $p = 0,0437$ ) un *ne-Bartonella spp.* ( $p = 0,0027$ ) (3.7. D attēls). Visos IE gadījumos MPO ekspresija būtiski atšķīrās no kontroles grupas, izņemot intracelulāri noteikto MPO ekspresiju *Bartonella spp.* izraisītā IE gadījumos. Gan intracelulāri, gan ekstracelulāri MPO bija ievērojami biežāk sastopama *ne-Bartonella spp.* IE gadījumos, salīdzinot ar *Bartonella spp.* IE pacientu paraugiem (attiecīgi  $p = 0,0279$  un  $p = 0,0020$ ) un kontroles grupu ( $p < 0,0001$ ). Tāpat *ne-Bartonella spp.* IE grupā MPO ekspresija bija ievērojami vairāk vērojama ( $p = 0,0279$ ) ārpusšūnu vidē (3.7. E attēls).



### 3.7. attēls. Reprēzentatīva MPO imūnhistoķīmiskās reakcijas ilustrācija

Reprēzentatīva imūnhistoķīmiskās reakcijas ilustrācija: negatīva kontrole (A). Mikroskopijas fotogrāfijas, kas parāda MPO ekspresijas raksturīgo izskatu, kas novērots intracelulāri un ekstracelulāri vārstu lapiņā un veģetācijā *Bartonella spp.* un ne-*Bartonella spp.* izraisītā IE gadījumos (B, C). MPO ekspresijas statistikas novērtējums (D, E). Saīsinājumi: MPO – mieloperoksidāze; *Bartonella* – *Bartonella spp.* izraisīts IE; ne-*Bartonella* – ne-*Bartonella spp.* izraisīts IE. MPO imūnhistoķīmija. Mērogs: 100 µm.

Anti-NE antivielu radīja izteiktu reakciju mērķa šūnās, papildinot to ar vidēji spēcīgu un diezgan izplūdušu ekstracelulāru reakciju gan vārstuļu lapiņās, gan veģetācijās *Bartonella spp.*, gan *ne-Bartonella spp.* IE gadījumā (3.8. A–C attēls). Šis neitrofilo leikocītu aktivācijas marķieris arī parādīja statistiski ticami lielāku ekspresiju veģetācijās, nevis sirds vārstuļu lapiņās, gan *ne-Bartonella spp.* IE gadījumā ( $p = 0,0022$ ), gan *Bartonella spp.* gadījumos ( $p = 0,0060$ ). Turklāt, savstarpēji salīdzinot, tā ekspresija vārstuļu lapiņās bija statistiski ticami augstāka *ne-Bartonella spp.* gadījumos ( $p = 0,0041$ ) (3.8. D attēls). Vienlaikus gan *Bartonella spp.*, gan *ne-Bartonella spp.* grupās NE ekspresija neatkarīgi no tā, vai tā ir intracelulāra vai ekstracelulāra, bija ievērojami augstāka (attiecīgi  $p = 0,0218$ ,  $p < 0,0001$  un  $p = 0,0154$ ,  $p = 0,0007$ ), salīdzinot ar kontrolēm (3.8. E attēls).

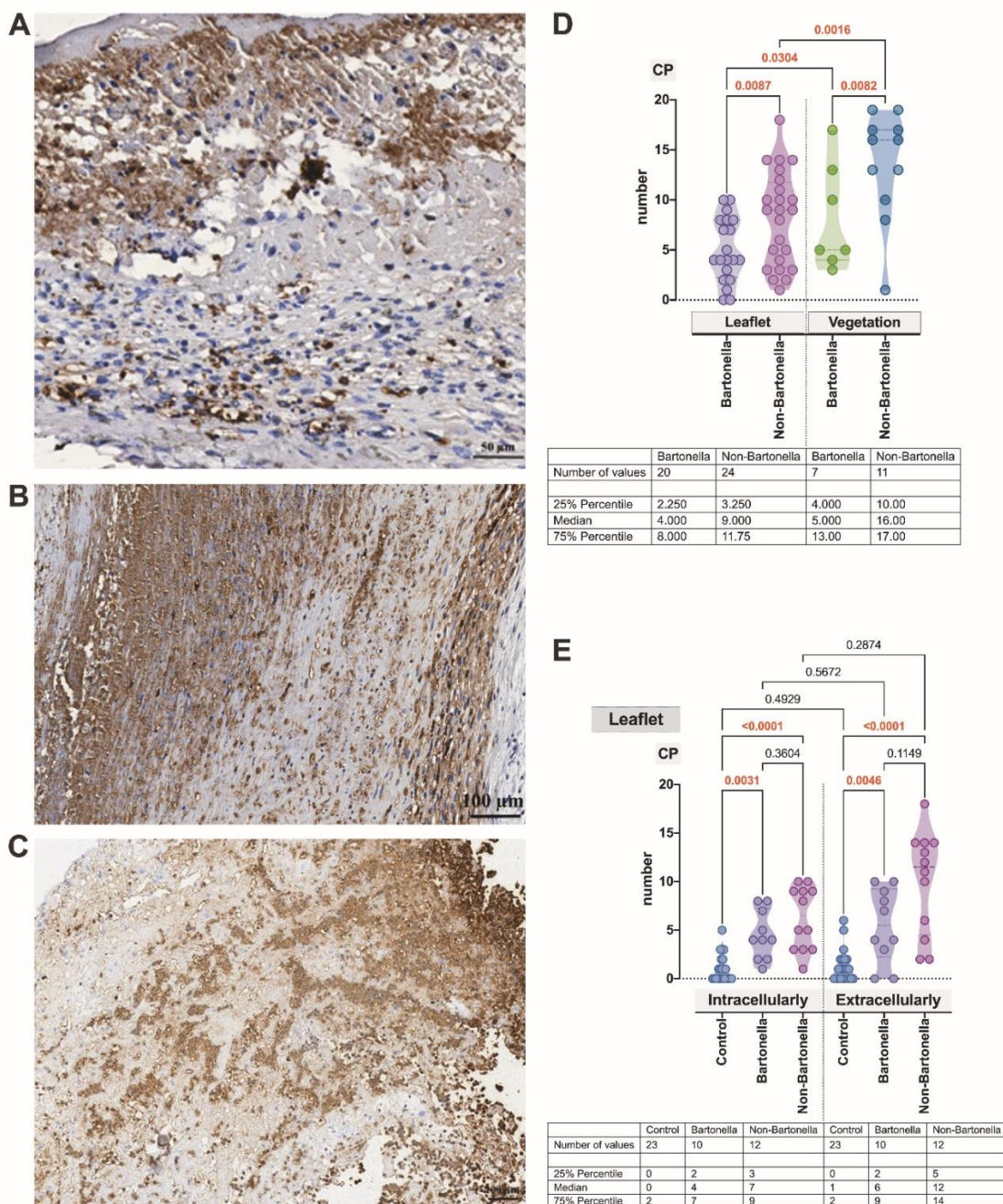


### 3.8. attēls. Reprezentatīva NE imūnhistoķīmiskās reakcijas ilustrācija

Mikroskopijas fotogrāfijas, kas parāda raksturīgo NE ekspresijas izskatu, kas novērots intracelulāri, bet galvenokārt ekstracelulāri vārstuļū veģetācijās *Bartonella spp.* (A) un ne- *Bartonella spp.* izraisīta IE gadījumos vārstuļū lapiņā un veģetācijā (B, C). Veģetācijās vērojamas imūnās šūnas. Vārstuļū lapiņās ir redzamas neovaskularizācijas pazīmes. NE statistikas novērtējums (D, E). Saīsinājumi: NE – neitrofilu elastāze; *Bartonella* – *Bartonella spp.* izraisīts IE; ne-*Bartonella* – ne-*Bartonella spp.* izraisīts IE. NE imūnhistoķīmija. Mērogs: 100 μm.

Kā nākamais neitrofilo leukocītu ekstracelulāro lamatu marķieris tika pētīts kalprotektīns (CP), heterodimērisks proteīns, kas bagātīgi sastopams neitrofilo leukocītu citosolā. Anti-CP antiViela intensīvi iekrāsoja šūnu citoplazmu, bet ekstracelulāri krāsojums bija difūzs un izplūdis (3.9. A, B, C, E attēls). Līdzīgi iepriekš minētajiem marķieriem tika

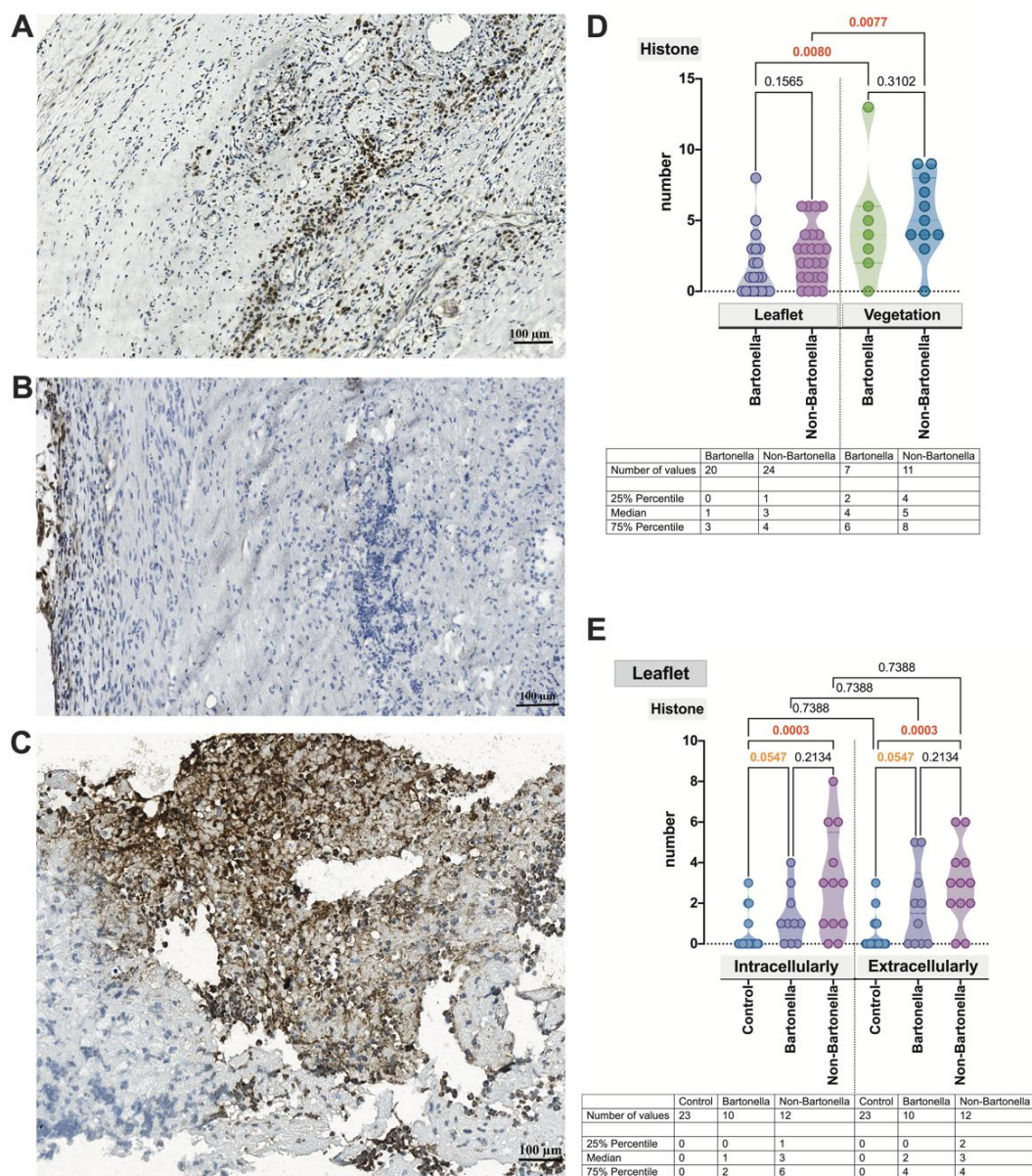
novērota izteiktāku marķiera ekspresija veģetācijā salīdzinājumā ar vārstuļa lapiņu gan *Bartonella spp.*, gan *ne-Bartonella spp.* IE gadījumos (attiecīgi  $p = 0,0304$  un  $p = 0,0016$ ) (3.9. D attēls). Gan vārstuļu lapiņās, gan veģetācijā CP ekspresija bija ievērojami izteiktāka *ne-Bartonella spp.* gadījumos (attiecīgi  $p = 0,0087$  un  $p = 0,0082$ ). Abās IE grupās gan intracelulāri, gan ekstracelulāri CP ekspresija bija statistiski nozīmīgi izteiktāka, salīdzinot ar kontroles grupu (attiecīgi  $p = 0,0031$ ,  $p < 0,0001$  un  $p = 0,0046$ ,  $p < 0,0001$ ) (3.9. E attēls).



### 3.9. attēls. Reprēzentatīva CP imūnhistoķīmiskās reakcijas ilustrācija

Mikroskopijas fotogrāfijas, kas parāda raksturīgo CP ekspresijas izskatu, kas novērots intracelulāri un ekstracelulāri vārstuļu veģetācijā *Bartonella spp.* (A) un *ne-Bartonella spp.* gadījumos vārstuļu lapiņā un veģetācijā (B, C). Vārstuļu lapiņās ir redzamas neovaskularizācijas pazīmes. CP statistikas novērtējums (D, E). Saīsinājumi: CP – kalprotektīns; Bartonella – *Bartonella spp.* izraisīts IE; ne-Bartonella – *ne-Bartonella spp.* izraisīts IE. CP imūnhistoķīmija. Mērogs: 100 μm.

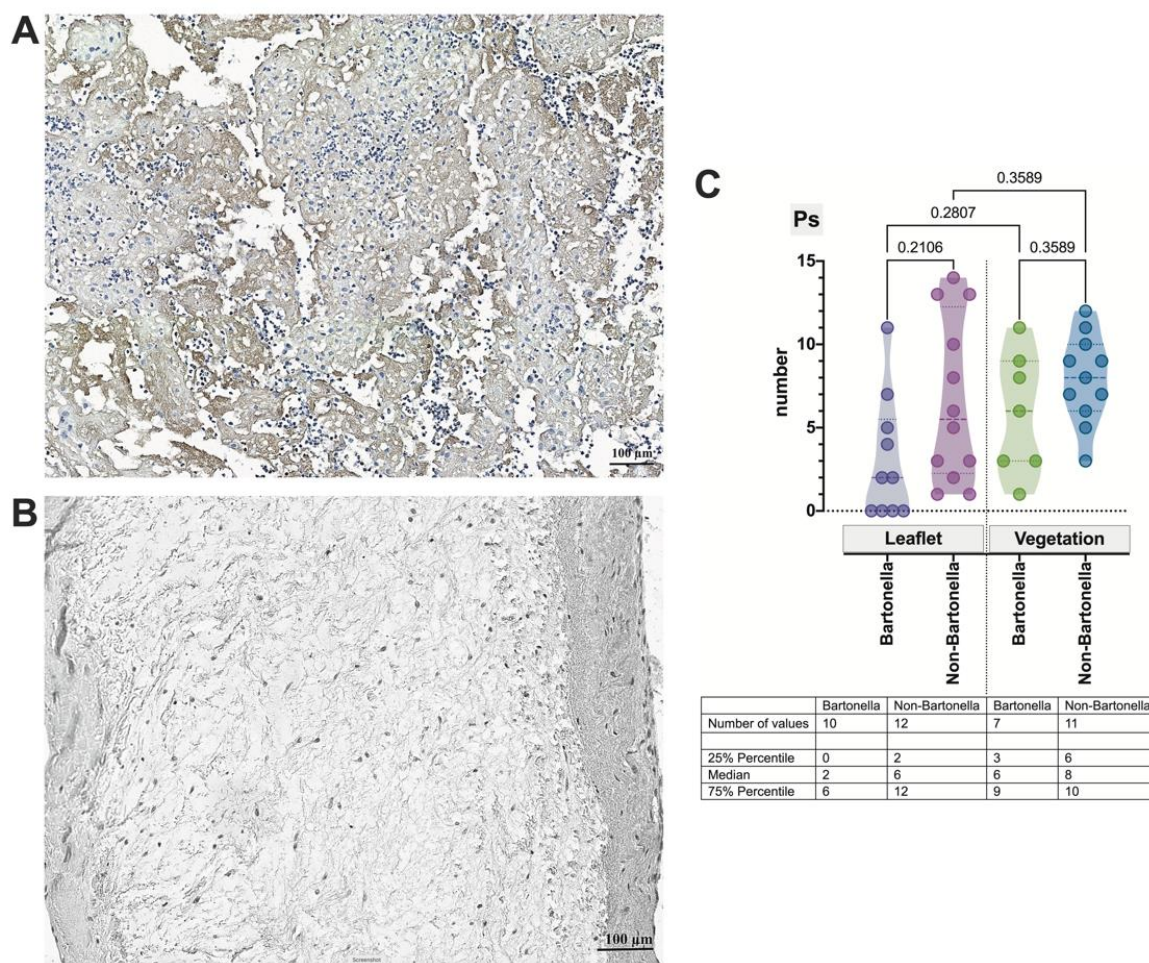
Histona H3 marķiera ekspresija šūnas kodolā tika konstatēta visos IE gadījumos (3.10. A attēls). *Bartonella spp.* gadījumos anti-histona H3 antiviena skaidri iezīmēja šūnas kodolu ar nelielu pārklāšanos citoplazmā. Pretēji *ne-Bartonella spp.* gadījumos marķiera ekspresija tika novērota ekstracelulāri un difūzāk (3.10. B attēls). Abu IE grupu gadījumos statistiski ticami izteiktāka histona H3 ekspresija tika novērota veģetācijās, nevis vārstuļa lapiņas fragmentā (3.10. C, D attēls), attiecīgi  $p = 0,0080$  *Bartonella spp.* un  $p = 0,0077$  *ne-Bartonella* IE gadījumā. Histona H3 ekspresija gan intracelulāri, gan ekstracelulāri bija statistiski ticami augstāka tikai *ne-Bartonella spp.* gadījumos ( $p = 0,0003$ ), salīdzinot ar kontroles grupu (3.10. D attēls).



### 3.10. attēls. Reprēzentatīva histona H3 imūnhistokīmiskās reakcijas ilustrācija

Mikroskopijas fotogrāfijas, kas parāda raksturīgo histona H3 ekspresijas izskatu, kas novērots vārstuļa lapiņā *Bartonella spp.* (A) un *ne-Bartonella spp.* gadījumos vārstuļa lapiņā un veģetācijā (B, C). Vārstuļa lapiņās ir redzamas neovaskularizācijas pazīmes. Histona H3 statistikas novērtējums (D, E). Saīsinājumi: *Histone* – histons H3; *Bartonella* – *Bartonella spp.* izraisīts IE; *ne-Bartonella* – *ne-Bartonella spp.* izraisīts IE. CP imūnhistokīmija. Mērogs: 100 μm.

Lai izpētītu adhēzijas molekulas P-selektīna nozīmi trombocītu un leikocītu savienojumu veidošanā, mēs izmantojām P-selektīna imūnhistoķīmiju. Lai gan bojātajās vārstuļu lapiņās bija zināma P-selektīna ekspresija, tā bija izteiktāka veģetācijās (3.11. A, B attēls). Jāatzīmē, ka ne-*Bartonella spp.* IE gadījumos bija vērojama augstāka P-selektīna ekspresija, salīdzinot ar *Bartonella spp.* izraisītu IE (3.11. C attēls), tomēr atšķirība nebija statistiski nozīmīga.



### 3.11. attēls. Rezentatīva P-selektīna imūnhistoķīmiskās reakcijas ilustrācija

Rezentatīva P-selektīna imūnhistoķīmijas ilustrācija: veģetācija, kas piestiprinās bojātajai vārstuļu lapiņai ne-*Bartonella spp.* IE gadījumā (A) un reakcijas neesamība negatīvajā kontrolē grupā (B). Mikroskopijas fotogrāfijā redzama pozitīva iekrāsošanās, kas, iespējams, atspoguļo šī transmembrānas proteīna klātbūtni trombocītos (B, C). Interesējošais reģions ir ļoti kolonizēts ar neitrofilajiem leikocītiem. Ps statistikas novērtējums (C). Saīsinājumi: Ps – P-selektīns; Bartonella – *Bartonella spp.* izraisīts IE; Non-Bartonella – ne-*Bartonella spp.* izraisīts IE. Mērogs: 100 μm.

### 3.5.3. Imūnhistoķīmiski noteikto neitrofilo leikocītu aktivizācijas marķieru daudzfaktoru analīze

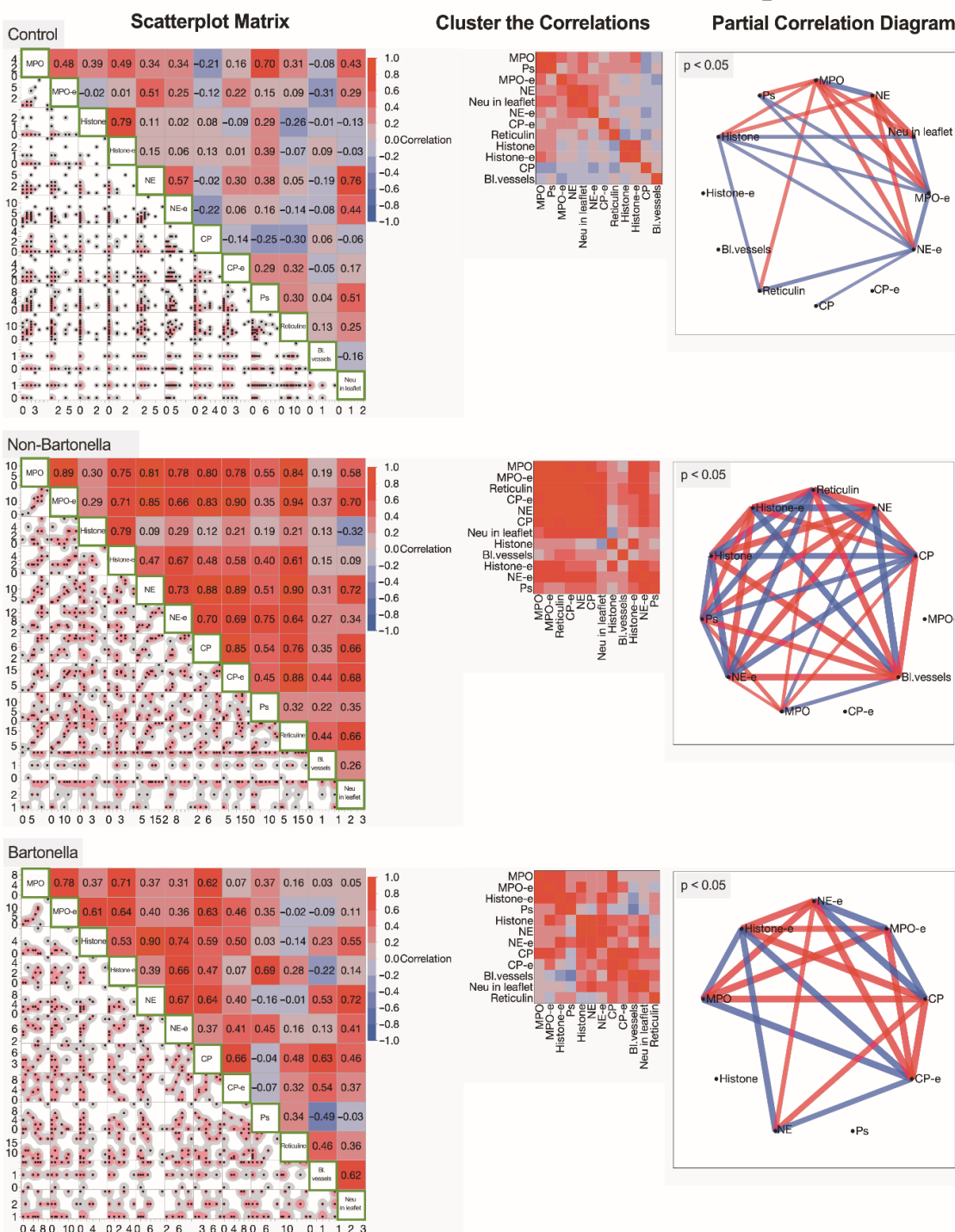
Lai attēlotu pāros neitrofilo leikocītu aktivizācijas marķieru savstarpējās asociācijas, tika veidotas Spīrmena rangū korelācijas koeficientu matricas gan kontrolgrupai, gan ne-*Bartonella spp.* un *Bartonella spp.* izraisīto IE pacientu grupām (3.12. attēls). Detalizētākai



izpētei par mijiedarbību starp neitrofilo leukocītu aktivizācijas marķieriem tika veidota korelāciju klasterizācija visām trim grupām. Turklāt parciālās korelāciju diagrammas ilustrē divu mainīgo starpā esošo attiecību stiprumu un virzienu, vienlaikus kontrolējot kovariātu efektus. Visas trīs pacientu grupas parādīja atšķirīgas neitrofilo leukocītu aktivācijas raksturīgās īpašības. Ne-*Bartonella spp.* IE pacientiem neitrofilo leukocītu citoplazmas granulu saturs uzrādīja spēcīgu korelāciju ar histoniem ekspresiju, tie konstatēti ekstracelulārajā vidē. Savukārt *Bartonella spp.* izraisītajiem IE pacientiem tika novērota spēcīga histonu korelācija ar NE un CP intracelulāri.

### Associations regarding groups

Control	0	Group	0.41	0.38	0.38	0.40	0.37	0.43	0.55	0.47	0.09	0.43	0.57	0.50
Non-Bartonella	1													
Bartonella	2													
			MPO	MPO-e	Histone	Histone-e	NE	NE-e	CP	CP-e	Ps	Reticulin	Bl. vessels	Neu in leaflet



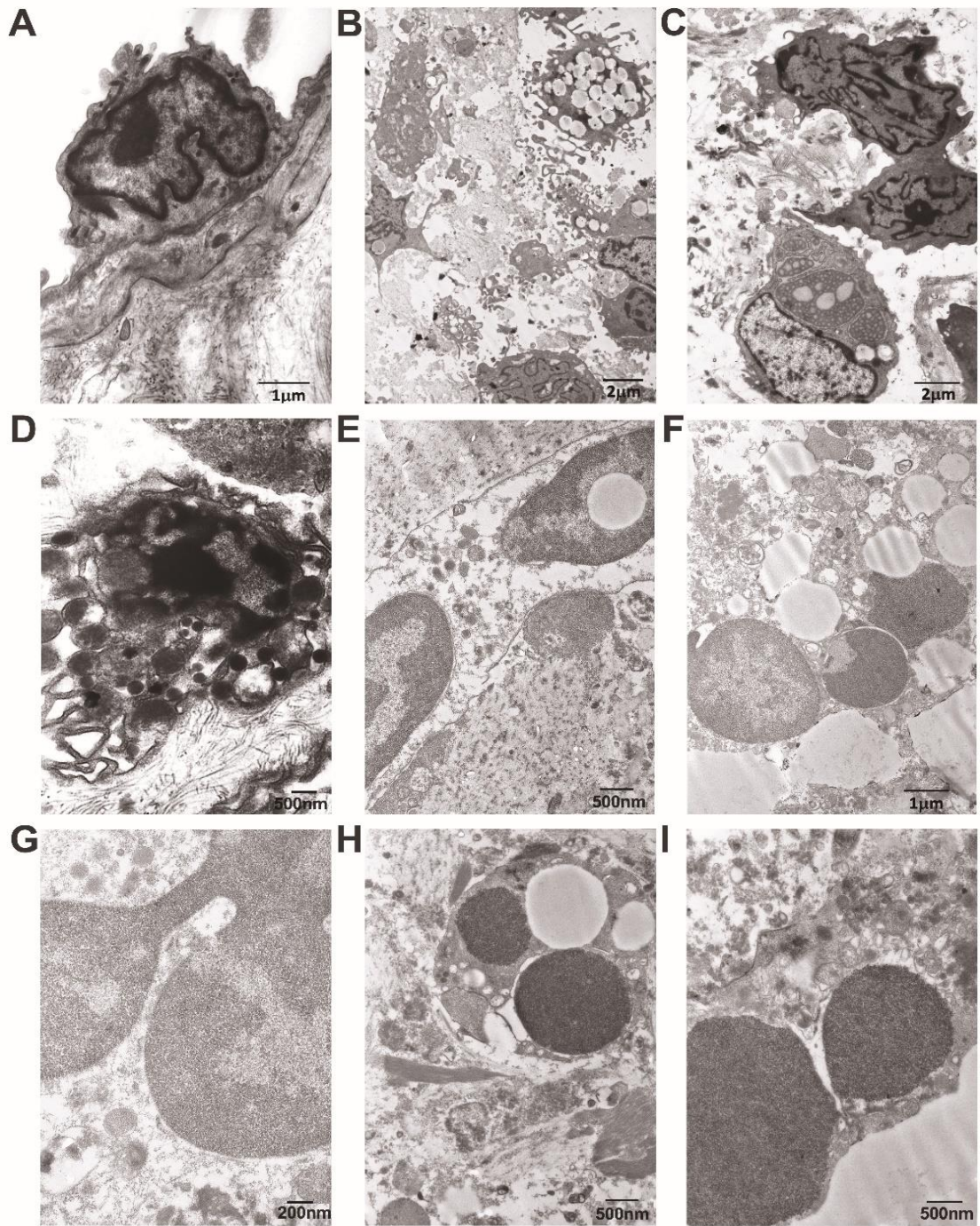
3.12. attēls. Izkliedes diagrammu matrica, korelāciju klasteri, parciālās korelāciju diagrammas

Asociācijas starp imūnhistoķīmiski iegūto neitrofilo leukocītu aktivizācijas marķieru ekspresijām. Izkliedes diagrammu matrica, kā arī atbilstošie Spirmena rangu korelācijas koeficienti, korelāciju klasteri un parciālās korelāciju diagrammas (pa labi) kontrolgrupai (augšā), ne-*Bartonella spp.* IE grupai (vidū) un *Bartonella spp.* IE grupai (apakšā). Saīsinājumi: MPO – mieloperoksidāze, MPO-e – mieloperoksidāzes ekspresija ekstracelulāri, *Histone* – histona H3 ekspresija, *Histone-e* – histona H3 ekspresija ekstracelulāri, NE – neitrofilu elastāze, NE-e – neitrofilu elastāzes ekspresija ekstracelulāri, Ps – P-selektīns, *Histone\_v* – histona H3 ekspresija veģetācijā, CP – kalprotektīns, CP-e – kalprotektīna ekspresija ekstracelulāri, *Neu in leaflet* – neitrofilo leukocītu skaits vārstuļu lapiņā, *Bl. vessels* – asinsvadi vārstuļu lapiņā.

### 3.5.4. Vārstuļu lapiņu un veģetāciju ultrastrukturālā analīze

Caurstarojošā elektronmikroskopija tiek uzskatīta par “zelta standartu” šūnu un organoīdu izpētei, kas arī sniedz informāciju par mikroorganismu invāziju sirds vārstuļu audos. Īpaša uzmanība tika veltīta ultrastrukturālajām izmaiņām, kas bija saistītas ar neitrofilajiem leukocītiem netozes laikā.

Pirmkārt, īpaši tika pētītas endotēlija šūnas tiešā veģetāciju tuvumā (3.13. A attēls). Šīs šūnas bieži bija apaļas formas, ar īsām un neregulāras formas mikrobārktīņām. Kodolapvalka forma bija neregulāra, kodola hromatīns bija mēreni marginēts. Šūnas citoplazma bija elektronoptiski blīva, atklājot vien nelielu organoīdu skaitu. Otrkārt, pašas veģetācijas sastāvēja pamatā no imūnajām šūnām, galvenokārt no makrofāgiem, plazmatiskajām šūnām, atsevišķiem trombocītiem, kuri bija saķērušies fibrīna pavedienos (3.13. B, C attēls). Lielākajā daļā gadījumu makrofāgiem tika novērotas labi attīstītas, elongētas pseidopodijas, kas tika izmantotas, lai satvertu un inkorporētu baktērijas un šūnu atliekas (3.13. D attēls). Visbeidzot īpaša uzmanība tika veltīta NET veidošanās procesam (3.13. E–I attēls). Neitrofilā leukocīta perinukleārā telpa bieži bija neregulāri paplašināta, dažviet diegveidīgu materiālu saturoša. Kodola membrāna bieži bija bojāta. Mūsu novērojumos hromatīns visbiežāk bija kondensēts un atradās ekstracelulāri. Citoplazmai bija zems elektronoptiskais blīvums. Tā saturēja nelielas dažādu formu granulas. Dažām granulām tika novēroti membrānas pārrāvumi un tāpat tika novērotas telolizosomas. Tika novēroti neliela izmēra mitohondriji, dažos gadījumos bija vērojami gan to iekšējās, gan ārējās membrānas pārrāvumi. Šūnu plazmatiskā membrāna bieži izskatījās plīsusi, un citoplazmas saturs un organoīdu paliekas bieži bija redzamas ekstracelulārajā telpā. Iepriekšminētā neitrofilo leukocītu atrade visizteiktāk tika novērota ne-*Bartonella* spp. IE gadījumos.



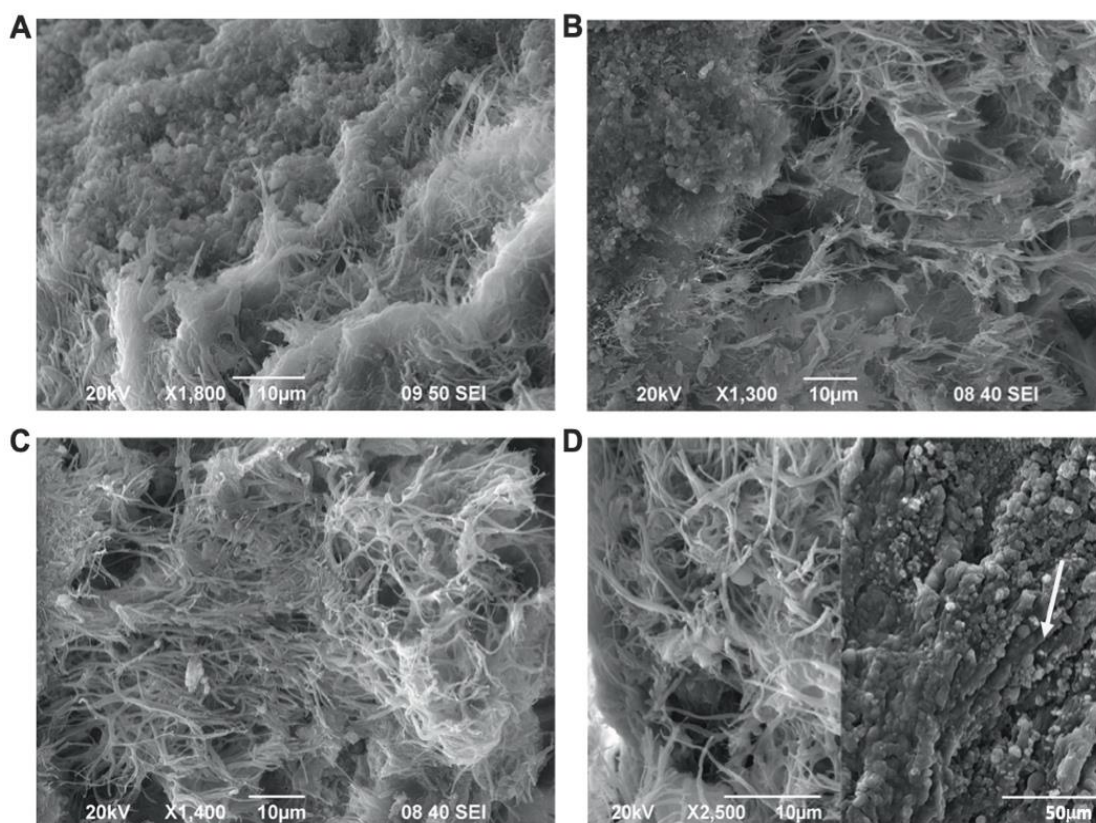
### 3.13. attēls. Caurstarojošā elektronmikroskopija

Reprezentatīvi attēli, kas iegūti, izmantojot caurstarojošo elektronmikroskopiju. (A) *Bartonella spp.* izraisīta IE pacienta vārstuļa lapiņas endotēlijs ir apaļas formas, ar dažām neregulārām un īsām mikrobarīkstīņām, viļņainu kodola apvalku; citoplazmā redzami atsevišķi organoīdi. (B) *Ne-Bartonella spp.* IE pacienta vārstuļa lapiņa. Redzamas dažādas imūnās šūnas, tostarp makrofāgi ar labi attīstītām pseidopodijām un kolagēna mikrofibrilas.

(C) Attēlā redzamas vārstuļu šūnas ar ļoti viļņainu kodola apvalku, kā arī imūnās šūnas ar plašu graudainā endoplazmatiskā tīkla izplešanos ar dažāda blīvuma saturu. (D) Neregulāras formas makrofāgs ar plīsušu plazmatisko membrānu un paplašinātu perinukleāro telpu, kā arī bojātiem mitohondrijiem un dažām citoplazmas granulām. (E) Neitrofilais leukocīts ar plīsušu plazmatisko membrānu, viļņainu ārējo kodola membrānu un dažādām granulām. Heterohromatīna fragmenti izvietoti ekstracelulāri. (F) Neitrofilā leukocīta brīvo apoptotisko kodola fragmentu šūnu atliekas un lipīdu pilieni. (G) Lielā mikroskopa palielinājumā redzams neitrofilā leukocīta kodols ar neregulāri paplašinātu perinukleāro telpu un plīsušu membrānu. To ieskauj citoplazma, kas satur granulas un autofāgiskas vakuolas. (H) Apoptotiska neitrofilā leukocīta fragmentu ieskauj fibrīns, kolagēns un šūnu atliekas. (I) Neitrofilā leukocīta fragments ar neregulāri paplašinātu perinukleāro telpu ar diegveidīgu materiālu, plīsuši membrāna un dažādas granulas, kas novietotas gan intracelulāri, gan ekstracelulāri. Mērogs:

1 μm; 2 μm, 2 μm, 500 nm, 500 nm, 1 μm, 200 nm, 500 nm, 500 nm.

Lai uzlabotu baktēriju adhēzijas, trombocītu, kā arī fibrīna tīklojuma vizualizāciju pie vārstuļu lapiņu virsmas *Bartonella spp.* un *ne-Bartonella spp.* IE gadījumos, tika izmantota arī skenējošā elektronmikroskopija. Veģetācija tika pētīta gan virspusē, gan dziļumā, tādējādi padarot redzamas baktērijas, kas piestiprinājušās pie endoteliālās virsmas. Tika novērots labi attīstīts fibrīna tīklojums, kuros bija manāmas saķērušās baktērijas un asiņu šūnas. Dažas elektronmikroskopijas fotogrāfijas atspoguļotas 3.14. A–D attēlā.



3.14. attēls. Skenējošā elektronmikroskopija

Reprezentatīvi skenējošās elektronmikroskopijas attēli, kuros attēlota aortas vārstuļa endotēlija šūnu un veģetācijas ultrastruktūra. (A) Veģetācijas virsmas un dziļuma uzbūve mazā mikroskopa palielinājumā.

(B) Veģetācijas izskats ar fibrīna tīklojumu un asins plātnītēm mazā mikroskopa palielinājumā.

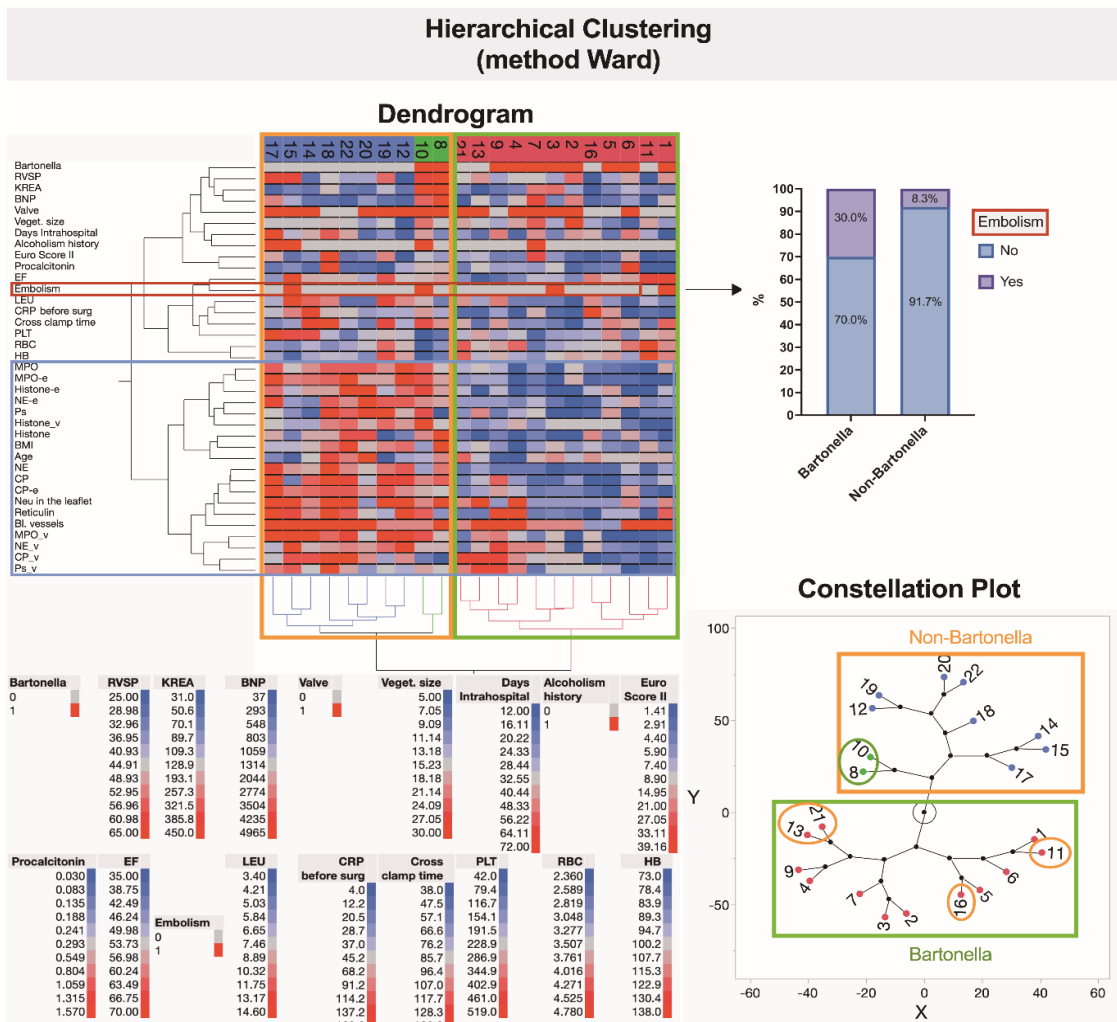
(C, D) Veģetācijas vidus daļas dziļuma skatā redzama veģetācijas arhitektūra ar fibrīna tīklojumu un dažām iesprostotām baktērijām. Kad trombocīti kopā ar baktērijām un leukocītiem veido veģetāciju, cieši izlīdzināto endotēlija šūnu virsma (norādīta ar baltu bultiņu) kļūst grūti pamanāma.

Mērogs: 10 μm; D panelī labajā pusē: 50 μm.

### 3.5.5. Hierarhiskā klasterizācija un aluviālā diagramma datu līdzības izpētei un vizualizācijai

Šajā pētījuma daļā ir aprakstīta hierarhiskās klasterizācijas metodes lietošana, lai analizētu neitrofilo leukocītu aktivācijas marķieru, klīnisko parametru, komplikāciju un laboratorisko rādītāju līdzības un atšķirības *Bartonella spp.* un *ne-Bartonella spp.* IE gadījumos. Hierarhiskās klasterizācijas analīzes rezultātā tika atpazītas trīs atsevišķas pacientu kopas, pamatojoties uz to īpašībām un parametriem (3.15. attēls). Zilās krāsas klasteris attēlo *ne-Bartonella spp.* IE pacientus, kuriem ir īpaši augsta neitrofilo leukocītu aktivācijas marķieru

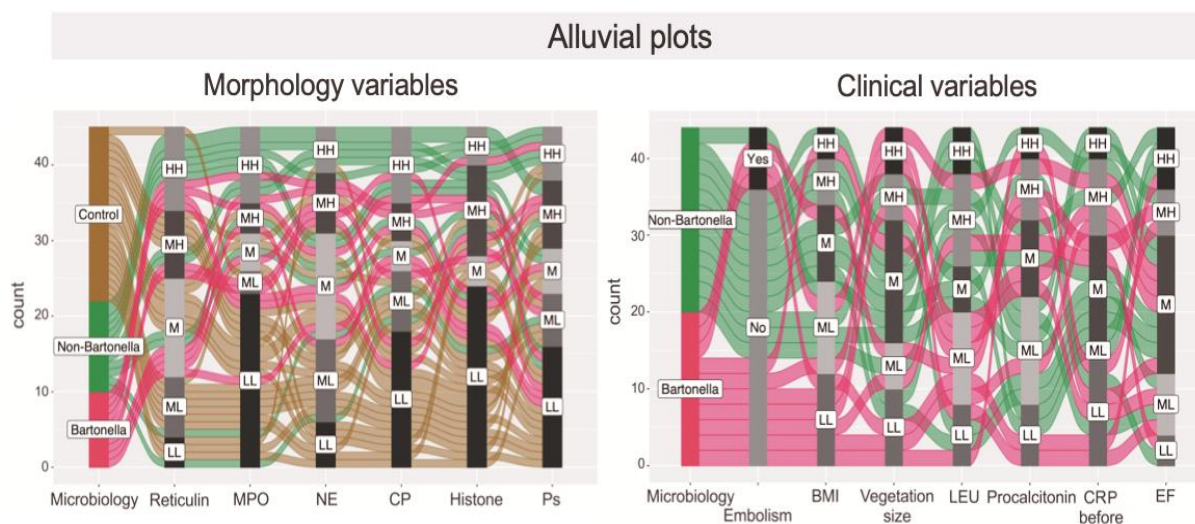
ekspresija, kas novērtēta ar imūnhistoķīmiskajām metodēm. Diviem pacientiem no zaļās krāsas klastera bija īpašības, kas tos atšķir no citiem. Sarkanās krāsas klasterī, kura pamatā bija *Bartonella spp.* IE pacienti, analīze atklāja ievērojami zemāku neitrofilo leukocītu aktivācijas. Būtiski, ka *Bartonella spp.* IE pacientiem, kuriem bija lielas veģetācijas, tika konstatēta embolija pat 30 % gadījumū.



### 3.15. attēls. Hierarhiskā klasterizācija

Hierarhiskā klasterizācija parāda ar pētāmo sistēmu saistīto datu punktu līdzības. Koka zari un lapas ietver datus par neitrofilo leukocītu aktivācijas marķieru imūnhistoķīmiskiem novērtējumiem, klīniskajiem parametriem, komplikācijām, tostarp emboliju, un vairākas laboratorijas analīzes. Saīsinājumi: RVSP – labā kambara sistoliskais spiediens; KREA – seruma kreatinīna līmenis, BNP – B tipa nātrijurētiskais peptīds, *Veget. size* – veģetācijas lielums, *Euro Score II* – *EuroSCORE II* risks, EF – kreisā kambara izviedes frakcija, LEU – leukocītu skaits, *CRP before surg.* – C-reaktīvā olbaltuma līmenis pirms operācijas, *Cross clamp time* – aortas oklūzijas laiks, PLT – trombocītu skaits, RBC – eritrocītu skaits, HB – hemoglobīna līmenis, MPO – mieloperoksidāze, MPO-e – mieloperoksidāzes ekspresija ekstracelulāri, *Histone-e* – histona H3 ekspresija ekstracelulāri, NE-e – neitrofilu elastāzes ekspresija ekstracelulāri, Ps – P-selektīns, *Histone\_v* – histona H3 ekspresija veģetācijā, BMI – ķermeņa masas indekss, NE – neitrofilu elastāze, CP – kalprotektīns, CP-e – kalprotektīna ekspresija ekstracelulāri, *Neu in the leaflet* – neitrofilo leukocītu skaits vārstuļa lapiņā, *Bl. vessels* – asinsvadi vārstuļa lapiņā, MPO\_v – mieloperoksidāzes ekspresija veģetācijā, NE\_v – neitrofilu elastāzes ekspresija veģetācijā, CP\_v – kalprotektīna ekspresija veģetācijā, Ps\_v – P-selektīna ekspresija veģetācijā.

Tika arī izveidotas aluviālās diagrammas. Šis datu vizualizācijas veids izmantots, lai ilustrētu asociāciju sadalījumu starp mainīgo kategoriskām dimensijām, tai skaitā imūnhistoķīmiski novērtētiem neitrofilo leukocītu aktivācijas marķieriem un klīniskajiem parametriem *Bartonella spp.* IE, *ne-Bartonella spp.* IE un kontroles grupu gadījumos (3.16. attēls).



3.16. attēls. Aluviālās diagrammas

Pacientu grupas attēlotas kā plūsmas starp mezgliem. Pacientu grupas attēlotas rindās, savukārt imūnhistoķīmiski iegūtās neitrofilo leukocītu aktivācijas marķieru izpausmes kolonnās. Katra marķiera skaits ir stratificēts piecos dažādos līmeņos. Pētītajās grupās katras attēlotās līnijas platumu un no tā izrietošo plūsmu nosaka proporcionālā daļa no kategorijas kopsummas. Kreisajā pusē novietotais grafiks parāda, ka *ne-Bartonella spp.* IE gadījumā visas imūnhistoķīmiskās izpausmes, kas norāda uz neitrofilo leukocītu aktivāciju, lielākoties ir augstas un vidēji augstas. Labajā pusē novietotais grafiks parāda, ka šajā pētījumā novērtētie klīnisko parametru līmeņi IE pacientu grupās atšķiras:  $\chi$ MI, leukocītu skaits, procalcitonīns un CRO sasniedza augstāko līmeni pacientiem, kas ir *ne-Bartonella spp.* IE grupā, bet lielākās veģetācijas tika novērotas *Bartonella spp.* pacientu grupā. Saīsinājumi: *High, High (HH)*; vidēja, augsta (MH); vidēja (M); vidējs, zems (ML); zems, zems (LL); MPO – mieloperoksidāze; NE – neitrofilu elastāze; CP – kalprotektīns; *Histone* – histons H3; Ps – P-selektīns; BMI – ķermeņa masas indekss; LEU – leukocītu skaits; *CRP before* – C-reaktīvā olbaltuma līmenis pirms operācijas; EF – kreisā kambara izsviedes frakcija.

### Pētījuma rezultātu kopsavilkums

1. Neitrofilo leukocītu ekstracelulārās lamatas ir iesaistītas IE patogēnēzes procesos, taču nav sastopamas pacientu vārstuļū audos ar deģeneratīvu saslimšanu.
2. Ir vērojamas atšķirības *Bartonella spp.* un *ne-Bartonella spp.* IE pacientu vārstuļū veģetāciju morfoloģijā.
3. Izteiktāka neitrofilo leukocītu aktivācijas marķieru aktivācija vērojama pacientiem ar *ne-Bartonella spp.* izraisītu IE.

## 4. Diskusija

### 4.1. Kardiķirurgģisko infekciozā endokardģta pacientu riska faktori

Neskatoties uz pieaugošajām iespējām IE diagnostikā, kā arī pieejamām vadlģnijām tā ārstēšanai, IE joprojām paliek klģniski grģti izārstējama slimģba, kas ir saistģta ar augstu mirstģbas risku (Habib et al., 2015; Pettersson & Hussain, 2019). Mģsu pģtģjumā ķirurgģiski ārstētajiem IE pacientiem intrahospitālā mirstģba bija 11,2 %. Lielākajā daļā gadģjumu pacientu tā galvenokārt bija saistģta ar kardiopulmonālu mazspģju. Citi nāves cģloņi bija nekontrolģta infekcija, intracerebrāla asiņģšana, kā arī viena pacienta nāve intraoperatģvi, masģvas asiņģšanas dģļ. Šeit pieminams trģkums ir tas, ka retrospektģvo datu dģļ lielākajai daļai pacientu ilgtermiņa nāves cģloņi ir nezināmi. Kopumā mģsu rezultāti ir salģdzināmi ar citu centru ziņotajiem datiem, kur intrahospitālā mirstģba svārstās no 10 līdz 20 % (Abramczuk et al., 2015; Fernandes et al., 2017; Murdoch et al., 2009; Selton-Suty et al., 2019). Lielā, starptautiskā multicentru pģtģjumā, kur piedalģjās 58 slimnģcas un 2781 ārstģts IE patients, kā galvenie riska faktori, kas saistģti ar palielinātu intrahospitālās mirstģbas risku, konstatģti pacienta vecums, plaušu tģska, perivalvulārās komplikācijas, vārstuļu protģžu IE un stafģlokoku IE klātbģtne (Murdoch et al., 2009). Pģtģjuma rezultāti apstiprināja, ka intrahospitālā mirstģba ir arī atkarģga no pacienta stāvokļa hospitalizācijas laikā un viņa blakusslimģbām. Šajā pģtģjumā kritisks perioperatģvais stāvoklis, kas definģts pģc *EuroSCORE* II riska kalkulatora (ventrikulāra tahikardģja vai ventrikulāra fibrilācijas, preoperatģva sirds masāža, preoperatģva mākslģgā plaušu ventilācijas pirms operācijas anestģzģjas, preoperatģva inotropu vai IABP lietošana, preoperatģva akģta nieru mazspģja (anģrija vai oligģrija < 10 ml/st)), bija 12,81 % pacientu. Lielākajai daļai kritiskā perioperatģvā stāvokļa pacientu bija preoperatģvi sākta mākslģgā plaušu ventilācijas. No blakusslimģbām IE pacientu vidģ 26,45 % bija ar hronisku nieru slimģbu, 11,56 % ar cukura diabģtu un 11,16 % ar hronisku obstruktģvu plaušu slimģbu. Subklģniska vai klģniski konstatģjama embolģja tika konstatģta 26,86 % pacientu. Sirds kreisās puses IE gadģjumā visbiežāk bija skarta centrālā nervu sistģma. Šajā pģtģjumā iekļautie pacienti gan ar klģniskām, gan subklģniskām neiroloģiskām izmaiņām tika ārstģti ķirurgģiski, pamatojoties uz 2015. gada Eiropas Kardioloģģjas biedrģbas vadlģnijām par endokardģta novēršanu, diagnozi un ārstģšanu. Pacientiem ar intrakraniālu asiņģšanu, kā arī smaga neiroloģģska bojāģjuma gadģjumā operācijas netika veikta, un šie pacienti saņģma konservatģvu ārstģšanu. Šādos gadģjumos operācijas tika atlikta vismaz uz vienu mģnesi, kad atkārtoti tika izvērtģta tās nepieciešamģba. Kopumā vģrojams, ka IE pacienti bieži sastopas ar daļģdu komplikācijas spektru, lģdz ar to nepieciešams rūpģgs pacientu monitorings pģc ķirurgģiskās ārstģšanas. Mģsu pģtģjumā viena gada mirstģba IE pacientiem bija 21,70 %, savukārt trģs gadu mirstģba – 28,70 %. Šie rezultāti saskan ar citu autoru ziņotajiem datiem, kas liecina, ka viena gada mirstģba var sasniegt 20–40 % (Cahill &



Prendergast, 2016; Murdoch et al., 2009; Muthiah et al., 2020; Rohn et al., 2020). Tika konstatēti vairāki neatkarīgi riska faktori, kas ietekmē IE pacientu izdzīvotību IE gadījumā pēc sirds operācijas, piemēram, *S. aureus* infekcija (RR 2,27,  $p = 0,002$ ), perivalvulāru komplikāciju esamība (RR 1,98,  $p = 0,009$ ) un sistēmiska veģetāciju embolija (RR 1,63,  $p = 0,048$ ). Turklāt vairākiem laboratorijas parametriem, kā, piemēram, paaugstinātam CRO līmenim (RR 1,2,  $p = 0,050$ ), B-tipa nātrijurētiskajam peptīdam (RR 1,28,  $p = 0,020$ ) un prokalciotonīnam (RR 1,2,  $p < 0,001$ ), tika konstatēta saistība ar intrahospitālo mirstību vienfaktora analīzē. *International Collaboration on Endocarditis-Prospective Cohort Study* pētījumā ziņots par vairākiem neatkarīgiem parametriem, kas ietekmē viena gada mirstību, piemēram, hroniska hemodialīze (RR 2,278,  $p < 0,001$ ), sirds mazspēja (RR 1,681,  $p < 0,001$ ), cukura diabēts (RR 1,461,  $p = 0,0069$ ), kā arī bioloģisko vārstuļu izmantošana (RR 1,298,  $p = 0,0406$ ) un citi (Murdoch et al., 2009). Mūsu pētījumā netika atrasta nozīmīga atšķirība starp intrahospitālo un ilgtermiņa mirstību starp tiem IE pacientiem, kuri saņēma bioloģiskos vai mehāniskos vārstuļus. Identificējot IE riska faktoros, jāņem vērā dažādi faktori, tostarp pacientu vecums, skaits, vietējās veselības aprūpes un ārstēšanas iespējas (Heiro et al., 2007; Toyoda et al., 2017). Lai gan daži IE pacienti ir jaunāki un bez blakusslimībām, ir būtiski apzināties, ka vecākiem pacientiem ar vairākām blakusslimībām ir augstāks risks sliktākam pēcoperācijas iznākumam, tāpēc viņu ārstēšanai nepieciešama īpaša uzmanība (Forestier et al., 2016). Kopumā blakusslimību klātbūtne un polifarmakoterapija, kā arī pacienta perioperatīvais stāvoklis ietekmē katras hospitalizētā pacienta pēcoperācijas gaitu, visbiežāk palielinot intrahospitālās mirstības risku un hospitalizācijas ilgumu (Scheggi et al., 2021). Vidējais hospitalizācijas un intensīvās terapijas vienības uzturēšanās ilgums, kas aprēķināts šajā pētījumā IE pacientiem, bija attiecīgi 26,86 un 4,54 dienas. Dažos gadījumos pacienti saņēma pilnu intravenozo antibiotiku kursu mūsu slimnīcā, tomēr daži pacienti tika pārsūtīti uz citām slimnīcām, kas atrodas tuvāk pacienta dzīvesvietai, lai pabeigtu ārstēšanu tur. Gadījumos, kad infekcija bija labi kontrolēta pēc intravenozo antibiotiku kursa pabeigšanas, pacienti tika izrakstīti mājās ar ieteikumiem lietot antibiotikas perorāli. Vadlīnijas rekomendē, ka komplicēti IE pacienti, tai skaitā ar blakusslimībām, ir ārstējami veselības iestādē, kurā pieejama endokardīta komanda, kas sastāv no dažādu specialitāšu ārstiem (Habib et al., 2015). Endokardīta komandas veidošana varētu uzlabot diagnostikas iespējas, samazināt komplikāciju attīstību un palielināt īstermiņa un ilgtermiņa izdzīvošanas iespējas pacientiem.

#### 4.2. Asiņu kultūras negatīva un pozitīva infekciozā endokardīta salīdzinājums kardiokirurģiskajiem pacientiem

Šajā retrospektīvajā pētījumā analizējām datus un klīniskos iznākumus AKPIE un AKNIE pacientiem, kuriem tika veikta sirds operācija. No 207 pacientiem 93 (44,9 %) bija AKNIE. Literatūrā AKNIE biežums tiek aprakstīts kā ļoti atšķirīgs – no 2,5 līdz 70 %, kas norāda uz augstu AKNIE incidenci šajā pētījumā (P Brouqui & Raoult, 2001). *Fournier* un kolēģu pētījumā AKNIE biežums prospektīvā analīzē ar 918 pacientiem bija 30,8 %. Viņu ierosinātā diagnostikas stratēģija 283 AKNIE pacientiem atklāja endokardīta etioloģiju 138 pacientiem (78,0 %), no kuriem 135 tika identificēts endokardītu izraisošais mikroorganisms. No tiem intracelulārās baktērijas, kā *C. burnetii*, *Bartonella spp.* un *T. whipplei*, veidoja 15,9 % AKNIE gadījumu. Trīs pacientiem (1,1 %) minētie autori apstiprināja neinfekciozu endokardīta cēloni. AKNIE gadījumā 56 no 70 pacientiem, kuri inficēti ar grampozitīviem kokiem, bija saņēmuši antibiotikas pirms asiņu kultūras ņemšanas, kas norāda uz agrīnu antibiotiku lietošanu kā iespējamu AKNIE cēloni (Fournier et al., 2017). Pētījumā tika izmantotas parastas baktēriju kultūras metodes, bez izvērsta papildu diagnostikas, lai pārbaudītu infekcijas izraisītājus, kas daļēji izskaidro augsto AKNIE sastopamību un zemo intracelulāro baktēriju atklāšanu. *Lamas* un kolēģu publicētie dati norāda, ka AKNIE lielākoties rodas no iepriekš lietotām antibiotikām (Lamas et al., 2016). Tā kā daudzi pacienti tika pārvesti no dažādām iestādēm uz mūsu slimnīcu, mēs nevarējām pilnībā izvērtēt iepriekš lietotās antibiotikas. Tam varētu būt nozīmīga loma mūsu pētījumā, rezultējoties ar zemākiem iekaisuma marķieriem un mazāk smagu pacientu stāvokli AKNIE grupā. Literatūrā dati par AKNIE pacientiem attiecībā uz iznākumu ir pretrunīgi. Mūsu pētījuma rezultāti norāda, ka nav statistiski nozīmīgas atšķirības starp intrahospitālo mirstību un trīs gadu mirstību starp AKPIE un AKNIE pacientiem. Tomēr bija novērojama tendence uz sliktāku iznākumu AKPIE grupā. Vienfaktora analīzē tika konstatēta augstāka intrahospitālā mirstība AKPIE grupā, tomēr daudzfaktoru analīzē statistiskā nozīmība netika atklāta. Šis atklājums varētu tikt skaidrots ar izteiktāku pirmsoperācijas stāvokļa smagumu un mazāk kontrolētas infekcijas pazīmēm AKPIE grupā. Mēs novērojam ievērojami zemākus hemoglobīna un hematokrīta līmeņus pirms operācijas, augstāku prokalcitonīna līmeni un citus faktorus, piemēram, intravenozo narkotiku lietošanu un vairāk blakusslimību. Mūsu atklājumi atbilst *Phua* u. c. veiktajiem pētījumu rezultātiem, kur pētīta kultūras negatīva un kultūras pozitīva sepse (Phua et al., 2013). Augstāki iekaisuma marķieri, piemēram, CRO un prokalcitonīns, parasti ir saistīti ar smagāku pirmsoperācijas stāvokli. Nesen veiktajos pētījumos prokalcitonīns ir atzīts par visvairāk pētīto un piemērotāko biomarķieri attiecībā uz antibiotiku izmantošanas efektivitāti (Gregoriano et al., 2020; Neeser et al., 2019). Ir pētījumi, kas liecina, ka augstāki sākuma CRO līmeņi

neatkarīgi ir saistīti ar īstermiņa nevēlamu notikumu biežumu un augstāki prokalcitonīna līmeņi ir saistīti ar palielinātu intrahospitālo mirstību (AlRawahi et al., 2019; Mohanan et al., 2018). R. F. Siciliano u. c. veiktajā prospektīvajā pētījumā ar 221 pacientu salīdzināja AKNIE ar AKPIE, un tika ziņots par 23,1 % AKNIE biežumu. Viņi konstatēja zemākus CRO līmeņus uzņemšanas brīdī AKNIE grupā, kas saskan ar mūsu pētījuma rezultātiem (Siciliano et al., 2020). Mūsu pētījumā visbiežāk konstatētais mikroorganisms bija *S. aureus* (31,6 %), kas bija saistīts ar intrahospitālo nāvi salīdzinājumā ar citiem mikroorganismiem gan vienfaktora, gan daudzfaktoru analīzē. Šis atklājums atbilst citu autoru veiktajiem rezultātiem (A. Wang et al., 2018). *S. aureus* ir patogēns, kas pazīstams ar agresīvu klīnisko izpausmi un sliktāku prognozi salīdzinājumā ar citiem mikroorganismiem (Han et al., 2017). Augsta agresīvu mikroorganismu, kā, piemēram, *S. aureus*, proporcija AKPIE grupā var ietekmēt iznākumu rezultātus un varētu būt saistīta ar smagāku pirmsoperācijas stāvokli. Šī pētījuma divi galvenie ierobežojumi ir relatīvi mazs pacientu skaits, turklāt tie visi ir analizēti vienas slimnīcas ietvaros. Tomēr par šo tēmu ir ļoti maz publicēto pētījumu, īpaši attiecībā uz AKNIE lomu sirds ķirurģijas pacientiem. Mūsu kardiķirurģijas centrs ir vienīgais, kas nodrošina sirds ķirurģiju valstī, tādēļ tas pārstāv visus Latvijas populācijas pacientus, kuriem veikta sirds operācija IE dēļ.

#### **4.3. Biežāko infekciozā endokardīta ierosinātāju mikroorganismu klīniskās gaitas un iznākuma atšķirības kardiķirurģiskajiem pacientiem**

Šajā pētījumā tika analizēta endokardīta etioloģija, riska faktori un klīniskie rezultāti, ko izraisa dažādi baktēriju aģenti ķirurģiski ārstētiem pacientiem. Zinātniskajā literatūrā ir arvien vairāk pierādījumu, ka *S. aureus* infekcijas klātbūtne bieži korelē ar sliktākiem klīniskajiem iznākumiem IE gadījumā. Mūsu pētījuma piecu gadu posmā *S. aureus* bija visbiežāk konstatētais IE izraisošais mikroorganisms. Šie dati saskan ar citiem pētījumiem, kur lielākajā daļā pasaules *S. aureus* ir visbiežākais endokardīta izraisītājs (Fernández Guerrero et al., 2009; Fowler et al., 2005; Murdoch et al., 2009). *S. aureus* ir mikroorganisms, kas izceļas ar savu agresīvo dabu un bieži ir saistīts ar smagāku slimības norisi (Han et al., 2017). Citu autoru pētījumi liecina, ka sirds kreisās puses endokardīta gadījumā subklīniska vai klīniski konstatējama galvas smadzeņu embolija notiek pat 30 % gadījumu (Snygg-Martin et al., 2008). Turklāt embolija uz centrālo nervu sistēmu visbiežāk tiek novērota tieši *S. aureus* gadījumos. Mūsu pētījumā, izņemot ehokardiogrāfiju, cita attēldiagnostika bija veikta tikai klīniskas nepieciešamības dēļ. Sistēmiska attēldiagnostika embolijas atklāšanai netika veikta, tādējādi emboliskās komplikācijas, iespējams, varētu būt konstatētas vairāk. Mēs konstatējam, ka pacientiem, kuri mira intrahospitāli, bija ievērojami vairāk embolisku notikumu, salīdzinot ar izdzīvojušajiem. Pētījumi liecina, ka ehokardiogrāfijas izmērītās veģetācijas lielumam ir

būtiska nozīme embolisku notikumu prognozēšanā. Pacienti ar sirds kreisās puses IE ar veģetācijām, kas lielākas par 10 mm, ir augsta embolijas riska grupā. Savukārt pētījumos ar sirds labās puses IE tiem pacientiem ar veģetācijām, kas lielākas par 25 mm, biežāk tika vēroti IE recidīvi (Thuny et al., 2005; Ye et al., 2021). Veģetāciju izmēra mērījumiem ir liela nozīme embolisko notikumu riska apzināšanai un to potenciālai novēršanai (Habib, 2019). Kaut gan šajā pētījumā *S. aureus* grupas pacientiem intrahospitālā mirstība nebija statistiski ticami atšķirīga no IE pacientiem ar citiem slimību izraisošajiem mikroorganismiem, ilgtermiņā tas bija nozīmīgi saistīts ar sliktāku prognozi. Šī atrade saskan ar citu autoru iegūtajiem rezultātiem, kas norāda, ka *S. aureus* klātbūtne ir saistīta ar sliktiem iznākumiem un augstu mirstību IE gadījumos (Cabezón et al., 2021). Salīdzinoši *E. faecalis* izraisītā endokardīta gaita bija mazāk smaga, kaut gan embolija *E. faecalis* gadījumā tika novērota bieži, tomēr kopumā tika vēroti labāki rezultāti ķirurģiski ārstētiem pacientiem. Apkopojot datus par ehokardiogrāfiski konstatētajiem bojājumiem, *Streptococcus spp.* bija nozīmīgi biežāk saistīti ar smagu aortālu nepietiekamību un fistulas veidošanos starp sirds dobumiem. Pacientiem ar aizdomām par paravalvulāriem abscesiem, fistulām starp sirds kamerām vairumā gadījumu tika veikta sirds CT angiogrāfija, lai precizētu anatomiju un plānotu iespējamo ķirurģisko korekciju. Pacientiem ar natīvā vārstuļa IE divos gadījumos tika konstatēta fistula – vienā gadījumā tā savienoja aortu ar labo priekškambari, bet otrā gadījumā aortu ar kreiso kambari. Pārējie fistulu veidošanās gadījumi bija saistīti ar vārstuļu protēžu IE. Domājams, ka salīdzinoši augstā mirstība *Streptococcus spp.* grupā saistāma ar iepriekš minēto augsto lokālo infekcijas izplatības sastopamību. Operācijas laikā lielākus abscesus un fistulas slēdza, izmantojot ksenoperikardu vai citus materiālus atkarībā no situācijas un anatomijas. Netika izmantoti homotransplantāti. Tāpat, salīdzinot izdzīvojušos un mirušos pacientus, tika konstatēts, ka pacientiem ar ilgāku aortas oklūzijas un mākslīgās asinsrites laiku ir ievērojami sliktāka prognoze, kas pamatā saistāms ar patoloģijas un tās korekcijas sarežģītību. Komplikācijas, kas saistītas ar *Streptococcus spp.*, daļēji varētu būt skaidrojamas ar relatīvi augstu beta hemolītisko streptokoku infekcijas proporciju, kas konstatēta 10 (28,6 %) pacientiem. Tomēr arī mazais pacientu skaits grupā ir viens no pētījuma trūkumiem un, iespējams, arī rezultātus ietekmējošajiem faktoriem. Ilgstošs laiks līdz diagnozei un ārstēšanai, kā arī ilgstošs laiks līdz IE references centram varētu arī būt viens no skaidrojumiem *Streptococcus spp.* endokardīta sliktajiem rezultātiem. Kopumā vairāk infekcijas skarti tika natīvie vārstuļi (79,9 %), salīdzinot ar vārstuļu protēzēm (20,1 %). KoNS bija visbiežākais vārstuļu protēžu endokardīta cēlonis. Šie rezultāti atbilst datiem, kas publicēti citu autoru pētījumos, kur norādīts, ka KoNS veido aptuveni 60 % no visiem vārstuļu protēžu endokardīta gadījumiem (Noshak et al., 2020). Tāpat KoNS un vārstuļu protēžu IE saistāms ar biežāk novērojamām perivalvulārām komplikācijām.

Līdzīgas atrades ir arī citu autoru pētījumos (Damlin et al., 2019; Trifunovic et al., 2018). Mākslīgās plaušu ventilācijas ilgums, kateholamīnu lietošana, nepieciešamība pēc hemodialīzes, kā arī augstāki secīga orgānu mazspējas novērtējuma skalas punkti (*Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)*, angļu val.) tika konstatēti kā riska faktori, kur vērtības bija augstākas neizdzīvojušo IE pacientu grupā kopā ar ilgāku aortas oklūzijas un mākslīgās asinsrites laiku. Šī pētījuma rezultāti ir jāvērtē, ņemot vērā dažus trūkumus. Pētījumā analizēti tikai sirds ķirurģijas pacienti. Konservatīvi ārstētie pacienti netika iekļauti šajā pētījumā. Lielākā daļa analizēto pacientu bija ar aktīvu infekciju, taču viņus operēja dažādos laika periodos atkarībā no operācijas steidzamības nepieciešamības. Turklāt operācijas veids, kas nav precizēts un analizēts šajā pētījumā, varētu ietekmēt iegūtos rezultātus. Lielākā daļa veikto operāciju bija vārstuļu protezēšana un infekcijas procesa sanācija. Kā jau minēts iepriekš, samērā nelielais pētījuma pacientu skaits katrā mikroorganisma grupā ir vēl viens šī pētījuma trūkums. Iespējams, ja būtu sīkāks *Streptococcus spp.* dalījums, varētu atklāties jauni datu raksturojumi par klīniskajiem iznākumiem (Allen et al., 2020). Šeit gan jāatzīmē, ka citu autoru darbos ir pētīta IE gaita un prognoze dažādām streptokoku sugām un nav konstatētas nozīmīgas atšķirības (Escrhuella-Vidal et al., 2021). Nāves cēlonis, kas saistīts ar ilgtermiņa mirstību, šajā pētījumā nav precizēts. Tāpat arī nav analizētas IE pacientu blakusslimības un terapijas ietekme, kas varētu sniegt jaunus datus un citas interpretācijas.

#### **4.4. 16S rRNS nākamās paaudzes sekvencēšanas lietojums infekciozā endokardīta pacientu vārstuļu paraugos**

Šajā pētījumā tika pētīta 16S rRNS NGS tehnoloģijas lietderība, analizējot ekscidētos vārstuļus pacientiem ar IE. Metodes lietderība īpaši tika konstatēta AKNIE gadījumos, kur tā izraisītāju mikroorganismu atklāja 70,6 % gadījumu, līdz ar to 23,9 % pacientu bija nepieciešamība mainīt antibiotiku terapiju. Šis atklājums izceļ NGS potenciālo klīnisko nozīmi, lai IE pacienti saņemtu pēc iespējas specifiskāku antibakteriālo terapiju, īpaši gadījumos, kad rutīnas mikrobioloģiskās metodes nespēj identificēt izraisītāju patogēnu. Ehokardiogrāfiski AKNIE pacientiem tika novērotas lielākas veģetācijas, tomēr sistēmiska embolija biežāk netika novērota. Līdzīgi arī iznākumi AKNIE un AKPIE pacientiem statistiski ticami neatšķirās. Tāpat zinātniskajā literatūrā nav vienprātības par iznākumiem AKNIE un AKPIE gadījumos. Ir veikti pētījumi, kas salīdzina AKNIE ar AKPIE un sepsi ar zināmu vai nezināmu izraisītāju, taču nav konstatētas būtiskas atšķirības iznākumu (t. sk. mirstības) ziņā (Phua et al., 2013; Zamorano et al., 2001). Tomēr nesen veiktā lielā pētījumā, kas salīdzināja iznākumus no *EURO-ENDO* reģistra, tika konstatēti sliktāki iznākumi AKNIE pacientiem. Ilgtermiņa mirstība AKNIE gadījumā bija augstāka nekā AKPIE pacientiem (Kong et al., 2022).

Vēl viens atklājums šajā pētījumā bija ļoti augstā *Bartonella spp.* infekcijas sastopamība. *Bartonella spp.* kopā ar *C. burnetii* ir biežāk konstatējamie mikroorganismi lielākajā daļā AKNIE gadījumu (Godfrey et al., 2020). Mūsu pētījumā netika atrasts neviens pacients ar *Coxiella spp.* endokardītu. Ir pētījumi, kur *C. burnetii* ir biežāk sastopams mikroorganisms atšķirībā no *Bartonella spp.* (W. Wang et al., 2022). Tas varētu būt skaidrojams ar ģeogrāfisko atrašanās vietu un vietējo endēmisko stāvokli. Tāpat ir pētījumi, kur uzsvērts, ka *Bartonella spp.* IE gadījumu skaits pēdējā laikā palielinās (Okaro et al., 2017). Vienā no lielākajiem publicētajiem *Bartonella spp.* endokardīta pētījumiem tika analizēti 101 pacienta dati Francijā no 1996. līdz 2001. gadam. Tika ziņots, ka *Bartonella spp.* kā IE izraisošais mikroorganisms veido aptuveni 3 % no visiem endokardīta gadījumiem. Alkoholisms un cilvēki, kuri dzīvo bez pajumtes, tika minēti kā riska faktori *Bartonella spp.* endokardīta attīstībai. Šis atklājums saskan ar mūsu pētījuma datiem, kur alkoholisma vēsture tika novērota būtiski biežāk nekā citu mikroorganismu izraisītais IE. Tika uzsvērtas aminoglikozīdu grupas antibiotiku loma *Bartonella spp.* IE ārstēšanā. Antibiotiku terapijas režīms, kas ietvēra aminoglikozīdus, bija saistīts ar būtiski labākiem iznākumiem (Raoult et al., 2003). *Bartonella spp.* ir saistītas ar vairākiem ekstrakardiāliem bojājumiem, tostarp nieru. Citu autoru veiktajā pētījumā (Ehrlich et al., 2010) 44 % pacientu ar *Bartonella spp.* endokardītu bija norādes uz nieru bojājumiem, tai skaitā glomerulonefrītu un akūtu nieru mazspēju (Ehrlich et al., 2010). Nieru bojājumu patoģenētiskie mehānismi var atšķirties *Bartonella spp.* endokardīta gadījumos (Raybould et al., 2016). Mūsu pētījumā pacientiem ar *Bartonella spp.* IE bija būtiski augstāks kreatinīna līmenis salīdzinājumā ar citiem mikroorganismiem, kas apstiprina iepriekš minēto.

Jāmin arī vairāki šī pētījuma trūkumi, kas var ietekmēt rezultātus. Pirmkārt, pētījums tika veikts vienā centrā un iekļāva relatīvi mazu pacientu skaitu. Otrkārt, kā trūkums jāatzīmē iespējamā pacientu atlase. Pētījuma laikā netika iekļauti visi operētie pacienti IE dēļ, bet gan nejauši izvēlēti pacientu gadījumi, tādēļ konstatēto mikroorganismu proporcijas neatbilst reālajām. Kā pašas 16S rRNS NGS trūkumi būtu jāatzīmē tās sensitivitāte un rezultātu neviennozīmīgā interpretācija. Nozīmīgs trūkums ir fakts, ka ar šo metodi var diagnosticēt baktērijas, bet nevar konstatēt sēnītes un vīrusus. Atšķirībā no vīrusiem sēnītes kaut arī reti, tomēr mēdz būt IE izraisītājas (Badiee et al., 2014). Būtisku lomu patogēna diagnostikā, izmantojot 16S rRNS NGS, spēlē konstatēto mikroorganismu nukleīnskābju relatīvais daudzums. Literatūrā minēts, ka par mikroorganisma kā izraisītāja lomu var izteikties, ja relatīvais nukleīnskābju daudzums vienam mikroorganismam ir virs 90 % (Flurin et al., 2022; Haddad et al., 2022; Santibáñez et al., 2021). Visbeidzot *Bartonella spp.* ar 16S rRNS NGS ļāva konstatēt tikai līdz ģints, nevis sugas, līmenim. Tāpēc nebija iespējams noteikt konkrētas

*Bartonella spp.* sugas, kas bija paraugos (Thornhill et al., 2018) un, iespējams, dotu papildu informāciju.

Kopumā AKNIE diagnoze ir sarežģīta un tā bieži prasa multidisciplināru pieeju, kā arī jaunas diagnostikas iespējas. Būtiski, lai IE ārstēšana būtu pielāgota atbilstoši patoloģiju izraisošajam mikroorganismam, pacienta klīniskajam stāvoklim un blakusslimībām. Klīnicistiem būtu jānovērtē ticamākie iemesli AKNIE, kas varētu būt iepriekšēja antibiotiku lietošana, grūti kultivējami vai intracelulāri mikroorganismi, kā arī iespējami neinfekciozas dabas endokardīta cēloņi. Mūsu pētījumā 16S rRNS NGS tehnoloģija paņemtajos sirds vārstuļu paraugos atzīstama kā efektīva IE izraisītāja mikroorganisma diagnosticēšanai, it īpaši gadījumos, kad asiņu kultūra ir negatīva.

#### **4.5. Morfoloģiskās atrades un neitrofilo leukocītu aktivācijas salīdzinājums *Bartonella spp.* un *ne-Bartonella spp.* infekciozā endokardīta gadījumos**

Šajā pētījumā ir apvienotas dažādas metodes un pieejas, lai piedāvātu dziļāku izpratni par *Bartonella spp.* izraisīta IE patogēnēzi, kas joprojām ir salīdzinoši maz pētīta. Šajā pētījumā tika izmantota daudzpusīga pieeja, analizējot dažādus ar *Bartonella spp.* IE saistītus faktorus, tostarp pacientu raksturlielumus, laboratorijas rādītājus, klīniskos rezultātus un histopatoloģiskos novērtējumus. Tika veikta morfoloģijas, risku un iespējamo patogēnēzes aspektu izpēte. Patogēnu diagnostikai tika izmantota 16S rRNS NGS tehnoloģija, jo *Bartonella spp.* ir reti IE izraisīti patogēni, kuru diagnostika mēdz būt apgrūtināta, jo ar standarta rutīnas mikrobioloģiskajiem uzsējumiem tie nav atklājami. *Bartonella spp.* īpašus IE aspektā padara fakts, ka tie ir fakultatīvi intracelulāri mikroorganismi atšķirībā no absolūti lielākās daļas biežāko IE izraisītāju. Tāpēc arī šobrīd nav daudz pētījumu par šo patogēnu izraisīto IE patogēnēzi. Pētījumā bez *Bartonella spp.* mikroorganismu aspekta fokusējāmies arī uz neitrofilo leukocītu aktivāciju un iespējamo neitrofilo leukocītu ekstracelulāro lamatu iesaisti IE procesā un veicām salīdzinājumu ar klasiskajiem IE ierosinātājiem, imūnhistoķīmiski nosakot to neitrofilo leukocītu aktivācijas marķierus, kas saistīti ar netozi. Tāpat tika pētīta histopatoloģiskā un histoķīmiskā, kā arī ultrastrukturālā atrade.

IE patogēnēzē būtiska loma ir mikroorganismu spējai izbēgt no fagocitozes, izveidojot biofilmas, tādējādi sevi iekapsulējot un padarot tos nepieejamus imūnajai sistēmai. Tiek plaši uzskatīts, ka IE gadījumā, izveidojoties veģetācijām, imūnās sistēmas iespējas piekļūt patogēniem ir ievērojami kavētas, turklāt pat adekvātas antibiotiku terapijas gadījumā var nebūt pietiekamas un, lai veiksmīgi izārstētu slimību, var būt nepieciešama ķirurģiska iejaukšanās, ekscidējot un sanējot infekciozos audus (Habib et al., 2015b). Mikroorganismu spējā paslēpties no imūnās sistēmas joprojām ir daudz nezināmā. Vadoties pēc dažādu pētīnieku rezultātiem, tipiski veģetācijas sastāv no baktērijām, kas ir iekapsulētas zem trombocītu un fibrīna slāņiem,

kas ir saistīti ar endotēliju. Pētnieki norādījuši, ka veģetāciju veidošanās procesā nozīme ir arī leukocītu transendoteliālajai migrācijai. Šajā gadījumā būtiski ir tādi šūnu virsmas antigēni kā Mac-1, LFA-1, ICAM-1, JAM grupas antigēni, PECAM-1 vai CD99 mediētās homofiliskās mijiedarbības (Chavakis et al., 2007; Shaw et al., 2004). Turklāt ir zināms, ka leukocītu nonākšana infekcijas perēklī caur subendoteliālo ekstracelulāro matrici notiek, pateicoties integrīna saistībai ar tādām matrices olbaltumvielām kā fibrinogēns, fibrīns, fibronektīns un kolagēns (Chavakis et al., 2007). Citi pētījumi ir parādījuši sirds vārstuļu mineralizāciju, pamatā kalcija sāļu izgulsnēšanos, kā IE veicinošu faktoru (Thiene & Basso, 2006). Bez iepriekšminētā ir arī atsevišķi pētījumi, kas veģetācijas veidošanos saista ar baktēriju un aktivētu trombocītu inducētu netozi, kā rezultātā notiek veģetācijas ekspansija (Jung et al., 2015). Vienlaikus *Bartonella spp.* IE ir sarežģīta diagnoze, jo visbiežāk tas ir asiņu kultūras negatīvais endokardīts. Šīs infekcijas sarežģītā rakstura dēļ precīzai apstiprināšanai ir nepieciešami specializēti testi. Pētījumos ir aprakstīts, ka diagnostika iespējama, izmantojot daudzpusīgu pieeju, kas ietver epidemioloģiskos datus, histoloģisko izmeklēšanu un nukleīnskābju amplifikācijas testus (Patel et al., 2019).

Ņemot vērā, ka *Bartonella spp.* mikroorganismi ir fakultatīvi intracelulāri, ir sagaidāmas iespējamās atšķirības no citiem mikroorganismiem NET iesaistē IE patoģenēzē. Tāpēc mūsu pētījumā izmantojām dažādas morfoloģiskas pieejas, lai noskaidrotu neitrofilo leukocītu ekstracelulāro lamatu iesaisti *Bartonella spp.* un ne-*Bartonella spp.* mikroorganismu gadījumos.

Neitrofilie leukocīti kopā ar trombocītiem un citām imūnajām šūnām ir tieši iesaistīti IE patoģenēzes procesā, radot bojājumus vārstuļa mikrovidē, veidojot ķīmiskos atraktantus un inducējot iekaisuma reakciju. Bojātajos sirds vārstuļu audos neitrofilie leukocīti aktīvi izdala dažādus enzīmus, hemokīnus, citokīnus, kā arī NET (S.-J. Kim & Jenne, 2016). Trombocīti bojātajā vārstulī kavē neitrofilo leukocītu apoptozes procesus un veicina aizsardzības mehānismus, piemēram, stimulē brīvo skābekļa radikāļu veidošanos, fagocitozi un MPO izdali (S.-J. Kim & Jenne, 2016). Trombocītus aktivizē lipopolisaharīdi, fon Villebranda faktors, trombocītu 4. faktors (*platelet factor 4*, angļu val.), kas savstarpēji reaģē ar neitrofilajiem leukocītiem caur tādiem receptoriem kā P-selektīns, PSGL-1, GPIb – integrīns M2 un tādējādi tiek iniciēti NET izdales mehānismi (Andrews et al., 2014; Carestia et al., 2016). Iepriekš tika pierādīts, ka atšķirīgi signāli, kas rodas gan no baktērijām, gan no aktivizētiem trombocītiem, var izraisīt netozi. Šo fenomenu 2015. gadā izpētīja autori *Chiau-Jing Jung* un *Chiou Yueh Yeh* (Jung et al., 2015). Autori ierosināja mehānismu, kurā IE patogēni veido agregātus ar trombocītiem uz sirds vārstuļiem, stimulējot trombocītus caur IgG molekulām, kas satur Fcγ receptorus. Šis aktivācijas process izraisa P-selektīna ekspresiju, kas ir atrodams trombocītu



$\alpha$ - granulās, un tas izpaužas tikai pēc aktivācijas. P-selektīna ekspresijas palielināšanās notiek, izveidojot trombocītu un leukocītu konjugātus, piesaistoties leukocītiem, ko veicina P-selektīna glikoproteīna liganda 1 receptors (Lam & Rumbaut, 2015; LeGuyader et al., 2006). Šī pētījuma rezultāti apstiprināja lielāku P-selektīna iesaisti IE patogēnēzes procesos, turklāt izteiktāk veģetācijās, salīdzinot ar sirds vārstuļu lapiņām. Augstāka P-selektīna ekspresija tika konstatēta izteiktāk tieši ne-*Bartonella spp.* izraisītos IE gadījumos, tomēr atšķirība nebija statistiski nozīmīga. Iepriekš tika pierādīts, ka atšķirīgi signāli, kas rodas gan no baktērijām, gan no aktivizētiem trombocītiem, var izraisīt netozi (Jung et al., 2015). Šo notikumu kulminācijas rezultātā veidojas NET, kam ir divi mērķi: tie veicina koagulācijas un trombocītu agregācijas aktivizēšanu, vienlaikus sagūstot baktēriju un trombocītu agregātus to tuvumā. Šis mehānisms veicina veģetācijas veidošanos. Būtiski, ka trombocīti un ar tiem saistītais P- selektīns ne tikai iesaistās IE, bet arī aktīvi ietekmē aterosklerozes bojājumu progresēšanu (Burger & Wagner, 2003; LeGuyader et al., 2006).

Netozes laikā izdalās tādas olbaltumvielas kā NE, MPO, CP, histoni u. c. To konstatēšana netieši norāda uz netozi un NET klātbūtni. Ir pierādīts, ka pēc aktivācijas NE tiek atbrīvota no azurofilajām granulām un pārvietojas uz kodolu, kur tas daļēji sadala laminīnu un histonus, veicinot kodola hromatīna dekondensāciju. Vēlāk arī MPO iesaistās procesā, vēl vairāk veicinot iepriekšminēto procesu (Papayannopoulos et al., 2010). Nesenie pētījumi liecina, ka, aktivizējot izolētus cilvēka neitrofilos leukocītus, ar NET saistītās neitrofilu proteāzes ietekmē ar NET saistīto proteīnu integritāti, inducējot NET veidošanos (de Bont & Pruijn, 2023). Turklāt tika novērota sarežģīta imūnās sistēmas atbilde pret polimikrobu infekcijām (Kao et al., 2023). Izpratne par kodola nozīmi netozes procesā sniedz vērtīgu ieskatu neitrofilo leukocītu uzvedībā imūnreakcijās, īpaši iekaisuma traucējumu kontekstā. Ultrastrukturālā līmenī kodola hromatīna dekondensācija ir svarīga un notiek pirms šūnas kodola sabrukšanas un NET atbrīvošanas. To novēro, pietūkstot neitrofilu kodoliem, kuros notiek netoze (Neubert et al., 2018). Līdz šim ir atpazīti vairāki netozes modeļi (Delgado-Rizo et al., 2017). Iepriekšējie TEM pētījumi ir skaidri parādījuši kodola izšķīšanu gan “suicidālajā”, gan “vitālajā” NET atbrīvošanā. “Suicidālas” netozes gadījumā kodola apvalks sadalās, pirms dekondensēts hromatīns aizpilda citoplazmu, sajaucoties ar granulu komponentiem, kā rezultātā notiek NET lītiskā izdalīšanās (Manley et al., 2018). Agrākie pētījumi norādīja uz iekšējās un ārējās kodola membrānas atdalīšanos un kodola DNS saturošu pūslīšu veidošanos (Pilszczek et al., 2010). Netozes sākšanās var būt saistīta ar apoptozes inhibīciju, tādējādi pastiprinot kopējo pretmikrobu ietekmi (Vorobjeva & Chernyak, 2020). Šajā pētījumā caurstarojošās elektronu mikroskopijas lietojums, lai analizētu sirds vārstuļu lapiņu un veģetāciju ultrastrukturālās īpašības IE, īpaši koncentrējoties uz neitrofilo leukocītu nozīmi NET veidošanās laikā, piedāvāja

jaunu ieskatu šūnu līmeņa mijiedarbībā un procesos. Mēs apstiprinājām perinukleārās telpas nelīdzenumus, kas dažreiz ir papildīti ar smalku pavedienu materiālu, kā arī kodola apvalka plīsumus ar hromatīnu, kas iestiprināts starp citoplazmas organoīdiem un ekstracelulārās matricas sastāvdaļām. Savukārt skenējošās elektronu mikroskopijas izmantošana, lai vizualizētu baktēriju adhēziju, fibrīna tīkla veidošanos un trombocītu parādīšanos veģetācijās gan *Bartonella spp.*, gan *ne-Bartonella spp.* izraisītā IE gadījumos, sniedza vizuālu slimības procesa attēlojumu mikroskopiskā līmenī. Šī pieeja tika pārbaudīta, pētot dažādu baktēriju sugu izraisīto IE veģetāciju struktūru, lai izprastu veģetāciju veidošanās patofizioloģiskos mehānismus (Hannachi et al., 2020; Onouchi et al., 2016).

Šajā pētījumā mēs iedziļinājāmies IE izmainīto sirds vārstuļu sarežģītajā struktūrā, kas saistīta ar veģetācijas veidošanos. Tika izmantotas dažādas morfoloģiskas pieejas, lai rūpīgi pārbaudītu slimības izraisīto vārstuļu bojājumu apmēru un noskaidrotu neitrofilo leukocītu iesaisti patoloģijā. Sirds vārstuļu izmaiņu un veģetācijas histopatoloģiskā izmeklēšana IE sniedz ieskatu *Bartonella spp.* izraisīto un *ne-Bartonella spp.* izraisīto gadījumu atšķirīgajās īpašībās. Mūsu pētījuma neitrofilo leukocītu marķieru, piemēram, MPO, NE, CP un histona H3, imūnhistoķīmiskā analīze izceļ atšķirības ekspresijas modeļos starp *Bartonella spp.* izraisītu un *ne-Bartonella spp.* izraisītu IE. Tas atklāj iespējamās imūnās reakcijas un netozes atšķirības.

Būtiskākais šī pētījuma atklājums ir neitrofilo leukocītu aktivizācijas marķieru ekspresijas konstatēšana IE vārstuļos, kas pierāda izteiktu neitrofilo leukocītu un neitrofilo leukocītu ekstracelulāro lamatu iesaisti patoģenēzē. Turklāt šo marķieru ekspresijā tika konstatētas nozīmīgas atšķirības *Bartonella spp.* un *ne-Bartonella spp.* IE pacientiem, kas, iespējams, ir saistāms ar faktu, ka *Bartonella spp.* ir fakultatīvi intracelulāri patogēni. Ņemot vērā faktu, ka tie ir reti sastopami mikroorganismi, arī pasaules mērogā ir ārkārtīgi maz pētījumu par šo patogēnu iesaisti IE patoģenēzē. Tiesa, pirms tādu molekulāro metožu nonākšanas pētniecībā un klīniskajā praksē kā PQR un NGS šo patogēnu diagnostika bija daudzārt retāka nekā mūsdienās. Ir pētījumi, kuros tiek uzsvērts *Bartonella spp.* infekciju, tai skaitā IE, pieaugums labāku diagnostikas iespēju dēļ (Okaro et al., 2017).

## Secinājumi

1. Dažādu mikroorganismu izraisīts infekciozais endokardīts ir saistīts ar atšķirīgu klīnisko iznākumu, komplikācijām un prognozi kardiķirurģiski ārstētiem pacientiem.
2. Perivalvulāra infekcijas izplatība ir neatkarīgi saistīta ar paaugstinātu intrahospitālo mirstību.
3. Nav statistiski nozīmīgu atšķirību starp asiņu kultūras pozitīva un negatīva endokardīta grupām attiecībā uz intrahospitālo mirstību, hospitalizācijas un intensīvās terapijas nodaļā pavadīto laiku, kā arī trīs gadu mirstību.
4. Lai diagnosticētu slimības izraisītāju, īpaši asiņu kultūras negatīva infekciozā endokardīta gadījumos, 16S rRNS NGS ir noderīga tehnoloģija.
5. Neitrofilo leikocītu, to aktivācijas marķieru un ekstracelulāro lamatu iesaiste slimības patoģenēzē vērojama visu bakteriālo mikroorganismu izraisīta infekciozā endokardīta gadījumos.

## **Praktiskās rekomendācijas**

1. Asiņu kultūras negatīva infekciozā endokardīta gadījumā 16S rRNS NGS ekscidēto vārstuļu audos ir rekomendējama metode izraisošā mikroorganisma diagnostikā un ārstēšanas precizēšanā.
2. Būtu nepieciešama “endokardīta komandas” izveide Latvijā infekciozā endokardīta diagnostikā, ārstēšanā un ilgtermiņa novērošanā, lai uzlabotu ārstēšanas rezultātus un pacientu prognozi.

## Publikācijas un ziņojumi par promocijas darba tēmu

### Starptautiski citējamas publikācijas:

1. **Meidrops, K.**, Zuravlova, A., Osipovs, J. D., Kalejs, M., Groma, V., Petrosina, E., Reinis, A., Strike, E., Dumpis, U., Erglis, A., & Stradins, P. (2021). Comparison of outcome between blood culture positive and negative infective endocarditis patients undergoing cardiac surgery. *Journal of Cardiothoracic Surgery*, *16*(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s13019-021-01532-9>
2. **Meidrops, K.**, Osipovs, J. D., Zuravlova, A., Groma, V., Kalejs, M., Petrosina, E., Leibuss, R., Strike, E., Dumpis, U., Erglis, A., & Stradins, P. (2022). Risk factors associated with mortality in the infective endocarditis patients requiring cardiac surgery: a study based on Latvian population. *The Journal of Cardiovascular Surgery*, *63*(4), 507–513. <https://doi.org/10.23736/S0021-9509.22.12092-6>
3. **Meidrops, K.**, Burkhardt, F. J., Osipovs, J. D., Petrosina, E., Groma, V., & Stradins, P. (2022). Etiology, Risk Factors and Clinical Outcomes in Infective Endocarditis Patients Requiring Cardiac Surgery. *Journal of Clinical Medicine*, *11*(7). <https://doi.org/10.3390/jcm11071957>
4. **Meidrops, K.**, Groma, V., Goldins, N. R., Apine, L., Skuja, S., Svirskis, S., Gudra, D., Fridmanis, D., Stradins, P. (2024). Understanding *Bartonella*-Associated Infective Endocarditis: Examining Heart Valve and Vegetation Appearance and the Role of Neutrophilic Leukocytes. *Cells*, *13*, 43. <https://doi.org/10.3390/cells13010043>
5. Goldins, N. R., **Meidrops, K.**, Apine, L., Petrosina, E., Stradins, P., Groma, V. (2023). Neutrophilic leukocytes and neutrophil extracellular traps in the native aortic valve endocarditis. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences*. *77*, 1, 41–48. <https://doi.org/10.2478/prolas-2023-0005>
6. Brida, M., Balint, H. O., Bence, A., Panfile, E., Prokšelj, K., Kačar, P., Lebid, I. H., Šimkova, I., Bobocka, K., **Meidrops, K.**, Strenge, A., Perčin, L., Kapleriene, L., Gumbiene, L., Tomkiewicz-Pająk, L., Komar, M., Roos-Hesselink, J. W., Gatzoulis, M. A., Diller, G. P. (2023). Infective endocarditis in adults with congenital heart disease: Contemporary management and related outcomes in Central and South-Eastern European region. *International Journal of Cardiology*. ISSN 0167-5273. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2023.01.012>.

### Uzstāšanās starptautiskā zinātniskā konferencē ar mutisku referātu:

1. **Meidrops, K.** (2021). Incidence of blood culture negative infective endocarditis in patients undergoing cardiac surgery. RSU Research Week 2021, Knowledge for Use in Practice. 24.–26.03.2021.
2. **Meidrops, K.** (2021). Infective endocarditis: should we revise Duke criteria? RSU Research Week 2021, Knowledge for Use in Practice. 24.–26.03.2021.
3. **Meidrops, K.** (2022). Infective endocarditis – a disease with many faces. Interventional Cardiology and Cardiac Surgery meeting Baltic Summer 2022. 17.06.2022.
4. **Meidrops, K.** (2023). Causative microorganism association with outcome in cardiac surgery patients with infective endocarditis. RSU Research Week 2023, Knowledge for Use in Practice. 29.–31.03.2023.

### Uzstāšanās starptautiskā zinātniskā konferencē ar stenda referātu:

1. Kalējs, M., Breics, I., **Meidrops, K.**, Leibuss, R., Klesmite, A., Strike, E., Stradins, P. (2021). A Delayed Staged Treatment Strategy in a Double-valve Septic Endocarditis Patient with Influenza, Severe ARDS and an Aortic Aneurism. The International Society for Minimally Invasive Cardiothoracic Surgery meeting. 18.–20.06.2021.
2. **Meidrops, K.**, Goldiņš, N. R., Groma, V., Kalējs, M., Stradiņš, P. Assessment of neutrophil leukocyte infiltration in aortic valves in patients with infective endocarditis. RSU Research Week 2021, Knowledge for Use in Practice. 24.–26.03.2021.

### **Uzstāšanās vietējas nozīmes zinātniskā konferencē:**

1. **Meidrops, K.** (2020). Infekciozs endokardīts. Klīniskais gadījums, patoģenēze un 5 gadu ķirurģiskās ārstēšanas pieredze Latvijā. Latvijas Hipertensijas un aterosklerozes biedrība. 12.08.2020.
2. **Meidrops, K.** (2021). Vai infekciozais endokardīts ir sirds slimība. Latvijas Ārstu biedrības Pasaules sirds veselības diena. 25.09.2021.
3. **Meidrops, K.** (2022). Infekciozais endokardīts – kāpēc ar to saslimst un kā ārstēt? Latvijas Kardioloģijas biedrības sēde. 07.04.2022.

## Literatūras saraksts

1. Abramczuk, E., Stępińska, J., & Hryniewiecki, T. (2015). Twenty-Year Experience in the Diagnosis and Treatment of Infective Endocarditis. *PloS One*, *10*(7), e0134021–e0134021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134021>
2. Alagna, L., Park, L. P., Nicholson, B. P., Keiger, A. J., Strahilevitz, J., Morris, A., Wray, D., Gordon, D., Delahaye, F., Edathodu, J., Miró, J. M., Fernández-Hidalgo, N., Nacinovich, F. M., Shahid, R., Woods, C. W., Joyce, M. J., Sexton, D. J., & Chu, V. H. (2014). Repeat endocarditis: analysis of risk factors based on the International Collaboration on Endocarditis – Prospective Cohort Study. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, *20*(6), 566–575. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12395>
3. Allen, C. J., Klein, J. L., & Prendergast, B. D. (2020). Streptococcal Infective Endocarditis. *Circulation*, *142*(8), 731–733. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.049055>
4. AlRawahi, A. N., AlHinai, F. A., Doig, C. J., Ball, C. G., Dixon, E., Xiao, Z., & Kirkpatrick, A. W. (2019). The prognostic value of serum procalcitonin measurements in critically injured patients: a systematic review. *Critical Care (London, England)*, *23*(1), 390. <https://doi.org/10.1186/s13054-019-2669-1>
5. Andrews, R. K., Arthur, J. F., & Gardiner, E. E. (2014). Neutrophil extracellular traps (NETs) and the role of platelets in infection. *Thrombosis and Haemostasis*, *112*(4), 659–665. <https://doi.org/10.1160/TH14-05-0455>
6. Badiie, P., Amirghofran, A. A., Ghazi Nour, M., Shafa, M., & Nemati, M. H. (2014). Incidence and outcome of documented fungal endocarditis. *International Cardiovascular Research Journal*, *8*(4), 152–155.
7. Benito, N., Miró, J. M., de Lazzari, E., Cabell, C. H., del Río, A., Altclas, J., Commerford, P., Delahaye, F., Dragulescu, S., Giamarellou, H., Habib, G., Kamarulzaman, A., Kumar, A. S., Nacinovich, F. M., Suter, F., Tribouilloy, C., Venugopal, K., Moreno, A., & Fowler, V. G. J. (2009). Health care-associated native valve endocarditis: importance of non-nosocomial acquisition. *Annals of Internal Medicine*, *150*(9), 586–594. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-150-9-200905050-00004>
8. Blanchard, V., Pagis, B., Richaud, R., Moronval, F., Lutinier, R., Gallais, K., Le Goanvic, C., Fontan, A., Girardot, S., Ah-Kang, F., Atger, O., Iung, B., & Lavie-Badie, Y. (2020). Infective endocarditis in French Polynesia: Epidemiology, treatments and outcomes. *Archives of Cardiovascular Diseases*, *113*(4), 252–262. <https://doi.org/10.1016/j.acvd.2019.12.007>
9. Braï, M. A., Hannachi, N., El Gueddari, N., Baudoin, J.-P., Dahmani, A., Lepidi, H., Habib, G., & Camoin-Jau, L. (2023). The Role of Platelets in Infective Endocarditis. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 24, Issue 8). <https://doi.org/10.3390/ijms24087540>
10. Breikopf, C., Hammel, D., Scheld, H. H., Peters, G., & Becker, K. (2005). Impact of a molecular approach to improve the microbiological diagnosis of infective heart valve endocarditis. *Circulation*, *111*(11), 1415–1421. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000158481.07569.8D>
11. Brinkmann, V., Reichard, U., Goosmann, C., Fauler, B., Uhlemann, Y., Weiss, D. S., Weinrauch, Y., & Zychlinsky, A. (2004). Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science (New York, N.Y.)*, *303*(5663), 1532–1535. <https://doi.org/10.1126/science.1092385>
12. Brouqui, P., & Raoult, D. (2001). Endocarditis Due to Rare and Fastidious Bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, *14*(1), 177 LP – 207. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.1.177-207.2001>
13. Brouqui, Philippe, & Raoult, D. (2006). New insight into the diagnosis of fastidious bacterial endocarditis. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, *47*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2006.00054.x>
14. Burger, P. C., & Wagner, D. D. (2003). Platelet P-selectin facilitates atherosclerotic lesion development. *Blood*, *101*(7), 2661–2666. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-07-2209>

15. Cabezón, G., López, J., Vilacosta, I., Sáez, C., García-Granja, P. E., Olmos, C., Jerónimo, A., Gutiérrez, Á., Pulido, P., de Miguel, M., Gómez, I., & San Román, J. A. (2021). Reassessment of vegetation size as a sole indication for surgery in left-sided infective endocarditis. *Journal of the American Society of Echocardiography: Official Publication of the American Society of Echocardiography*. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2021.12.013>
16. Cahill, T. J., & Prendergast, B. D. (2016). Infective endocarditis. *Lancet (London, England)*, 387(10021), 882–893. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00067-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00067-7)
17. Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
18. Carestia, A., Kaufman, T., & Schattner, M. (2016). Platelets: New Bricks in the Building of Neutrophil Extracellular Traps. *Frontiers in Immunology*, 7, 271. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00271>
19. Chavakis, T., Preissner, K. T., & Herrmann, M. (2007). The anti-inflammatory activities of *Staphylococcus aureus*. *Trends in Immunology*, 28(9), 408–418. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.it.2007.07.002>
20. Contrepois, A. (1995). Notes on the early history of infective endocarditis and the development of an experimental model. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 20(2), 461–466. <https://doi.org/10.1093/clinids/20.2.461>
21. Cooper, H. A., Thompson, E. C., Laureno, R., Fuisz, A., Mark, A. S., Lin, M., & Goldstein, S. A. (2009). Subclinical brain embolization in left-sided infective endocarditis: results from the evaluation by MRI of the brains of patients with left-sided intracardiac solid masses (EMBOLISM) pilot study. *Circulation*, 120(7), 585–591. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.834432>
22. Cresti, A., Chiavarelli, M., Scalese, M., Nencioni, C., Valentini, S., Guerrini, F., D’Aiello, I., Picchi, A., De Sensi, F., & Habib, G. (2017). Epidemiological and mortality trends in infective endocarditis, a 17-year population-based prospective study. *Cardiovascular Diagnosis and Therapy*, 7(1), 27–35. <https://doi.org/10.21037/cdt.2016.08.09>
23. Damlin, A., Westling, K., Maret, E., Stålsby Lundborg, C., Caidahl, K., & Eriksson, M. J. (2019). Associations between echocardiographic manifestations and bacterial species in patients with infective endocarditis: a cohort study. *BMC Infectious Diseases*, 19(1), 1052. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4682-z>
24. De Bont, C., & Pruijn, G. J. M. (2023). Citrulline is not a major determinant of autoantibody reactivity to neutrophil extracellular traps. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 378(1890), 20220249. <https://doi.org/10.1098/rstb.2022.0249>
25. Delahaye, F., Célard, M., Roth, O., & de Gevigney, G. (2004). Indications and optimal timing for surgery in infective endocarditis. *Heart (British Cardiac Society)*, 90(6), 618–620. <https://doi.org/10.1136/hrt.2003.029967>
26. Delgado-Rizo, V., Martínez-Guzmán, M. A., Iñiguez-Gutierrez, L., García-Orozco, A., Alvarado-Navarro, A., & Fafutis-Morris, M. (2017). Neutrophil Extracellular Traps and Its Implications in Inflammation: An Overview. *Frontiers in Immunology*, 8, 81. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00081>
27. Delgado, V., Ajmone Marsan, N., de Waha, S., Bonaros, N., Brida, M., Burri, H., Caselli, S., Doenst, T., Ederhy, S., Erba, P. A., Foldager, D., Fosbøl, E. L., Kovac, J., Mestres, C. A., Miller, O. I., Miro, J. M., Pazdernik, M., Pizzi, M. N., Quintana, E., ... E S C Scientific Document Group. (2023). 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). *European Heart Journal*, 44(39), 3948–4042. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad193>



28. Durack, D. T., Beeson, P. B., & Petersdorf, R. G. (1973). Experimental bacterial endocarditis. 3. Production and progress of the disease in rabbits. *British Journal of Experimental Pathology*, *54*(2), 142–151.
29. Durack, D. T., Lukes, A. S., & Bright, D. K. (1994). New criteria for diagnosis of infective endocarditis: utilization of specific echocardiographic findings. Duke Endocarditis Service. *The American Journal of Medicine*, *96*(3), 200–209. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(94\)90143-0](https://doi.org/10.1016/0002-9343(94)90143-0)
30. Ehrlich, G. D., Ahmed, A., Earl, J., Hiller, N. L., Costerton, J. W., Stoodley, P., Post, J. C., DeMeo, P., & Hu, F. Z. (2010). The distributed genome hypothesis as a rubric for understanding evolution in situ during chronic bacterial biofilm infectious processes. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, *59*(3), 269–279. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2010.00704.x>
31. El-Shami, K., Griffiths, E., & Streiff, M. (2007). Nonbacterial thrombotic endocarditis in cancer patients: pathogenesis, diagnosis, and treatment. *The Oncologist*, *12*(5), 518–523. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.12-5-518>
32. Escrihuela-Vidal, F., López-Cortés, L. E., Escolà-Vergé, L., De Alarcón González, A., Cuervo, G., Sánchez-Porto, A., Fernández-Hidalgo, N., Luque, R., Montejo, M., Miró, J. M., Goenaga, M. Á., Muñoz, P., Valerio, M., Ripa, M., Sousa-Regueiro, D., Gurguí, M., Fariñas-Alvarez, M. C., Mateu, L., García Vázquez, E., ... Carratalà, J. (2021). Clinical Features and Outcomes of Streptococcus anginosus Group Infective Endocarditis: A Multicenter Matched Cohort Study. *Open Forum Infectious Diseases*, *8*(6), ofab163. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofab163>
33. Etulain, J., Martinod, K., Wong, S. L., Cifuni, S. M., Schattner, M., & Wagner, D. D. (2015). P-selectin promotes neutrophil extracellular trap formation in mice. *Blood*, *126*(2), 242–246. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-01-624023>
34. Farbod, F., Kanaan, H., & Farbod, J. (2009). Infective endocarditis and antibiotic prophylaxis prior to dental/oral procedures: latest revision to the guidelines by the American Heart Association published April 2007. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, *38*(6), 626–631. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2009.03.717>
35. Fernandes, E., Olive, C., Inamo, J., Roques, F., Cabié, A., & Hochedez, P. (2017). Infective Endocarditis in French West Indies: A 13-Year Observational Study. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *97*(1), 77–83. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0514>
36. Fernández-Hidalgo, N., Almirante, B., Tornos, P., Pigrau, C., Sambola, A., Igual, A., & Pahissa, A. (2008). Contemporary epidemiology and prognosis of health care-associated infective endocarditis. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, *47*(10), 1287–1297. <https://doi.org/10.1086/592576>
37. Fernández Guerrero, M. L., González López, J. J., Goyenechea, A., Fraile, J., & de Górgolas, M. (2009). Endocarditis caused by Staphylococcus aureus: A reappraisal of the epidemiologic, clinical, and pathologic manifestations with analysis of factors determining outcome. *Medicine*, *88*(1), 1–22. <https://doi.org/10.1097/MD.0b013e318194da65>
38. Flurin, L., Wolf, M. J., Fisher, C. R., Cano Cevallos, E. J., Vaillant, J. J., Pritt, B. S., DeSimone, D. C., & Patel, R. (2022). Pathogen Detection in Infective Endocarditis Using Targeted Metagenomics on Whole Blood and Plasma: a Prospective Pilot Study. *Journal of Clinical Microbiology*, *60*(9), e0062122. <https://doi.org/10.1128/jcm.00621-22>
39. Forestier, E., Fraisse, T., Roubaud-Baudron, C., Selton-Suty, C., & Pagani, L. (2016). Managing infective endocarditis in the elderly: new issues for an old disease. *Clinical Interventions in Aging*, *11*, 1199–1206. <https://doi.org/10.2147/CIA.S101902>
40. Fournier, P.-E., Gouriet, F., Casalta, J.-P., Lepidi, H., Chaudet, H., Thuny, F., Collart, F., Habib, G., & Raoult, D. (2017). Blood culture-negative endocarditis: Improving the diagnostic yield using new diagnostic tools. *Medicine*, *96*(47), e8392–e8392. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000008392>
41. Fournier, P.-E., Thuny, F., Richet, H., Lepidi, H., Casalta, J.-P., Arzouni, J.-P., Maurin, M., Célard, M., Mainardi, J.-L., Caus, T., Collart, F., Habib, G., & Raoult, D. (2010). Comprehensive diagnostic strategy for blood culture-negative endocarditis: a prospective study of 819 new cases. *Clinical*

42. Fowler, V.G., Durack, D.T., Selton-Suty, C., Athan, E., Bayer, A.S., Chamis, A.L. et al. The 2023 Duke-International Society for Cardiovascular Infectious Diseases Criteria for Infective Endocarditis: Updating the Modified Duke Criteria. *Clin Infect Dis* 2023; 77:518-526.
43. Fowler, V. G., Miro, J. M., Hoen, B., Cabell, C. H., Abrutyn, E., Rubinstein, E., Corey, G. R., Spelman, D., Bradley, S. F., Barsic, B., Pappas, P. A., Anstrom, K. J., Wray, D., Fortes, C. Q., Anguera, I., Athan, E., Jones, P., van der Meer, J. T. M., Elliott, T. S. J., ... ICE Investigators, for the. (2005). Staphylococcus aureus Endocarditis A Consequence of Medical Progress. *JAMA*, 293(24), 3012–3021. <https://doi.org/10.1001/jama.293.24.3012>
44. Freedman, L. R., Arnold, S., & Valone, J. (1974). Experimental endocarditis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 236(0), 456–465. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1974.tb41510.x>
45. Garcia, R. A., Guragai, N., Vasudev, R., Randhawa, P., & Habib, M. G. (2021). Rare Association of Non-Bacterial Thrombotic Endocarditis, Myocardial Infarction, and Acute Limb Ischemia Secondary to Rheumatoid Arthritis: Comprehensive Case Series With Literature Review. In *Cureus* (Vol. 13, Issue 2, p. e13319). <https://doi.org/10.7759/cureus.13319>
46. Garvey, W. (1996). Silver Impregnation Techniques to Identify Spirochetes and Other Bacteria. *Journal of Histotechnology*, 19(3), 203–209. <https://doi.org/10.1179/his.1996.19.3.203>
47. Gauduchon, V., Chalabreysse, L., Etienne, J., Célard, M., Benito, Y., Lepidi, H., Thivolet-Béjui, F., & Vandenesch, F. (2003). Molecular diagnosis of infective endocarditis by PCR amplification and direct sequencing of DNA from valve tissue. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(2), 763–766. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.2.763-766.2003>
48. Godfrey, R., Curtis, S., Schilling, W. H., & James, P. R. (2020). Blood culture negative endocarditis in the modern era of 16S rRNA sequencing. *Clinical Medicine (London, England)*, 20(4), 412–416. <https://doi.org/10.7861/clinmed.2019-0342>
49. Goldenberger, D., Künzli, A., Vogt, P., Zbinden, R., & Altwegg, M. (1997). Molecular diagnosis of bacterial endocarditis by broad-range PCR amplification and direct sequencing. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(11), 2733–2739. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.11.2733-2739.1997>
50. González Quintela, A., Candela, M. J., Vidal, C., Román, J., & Aramburo, P. (1991). Non-bacterial thrombotic endocarditis in cancer patients. *Acta Cardiologica*, 46(1), 1–9.
51. Gregoriano, C., Heilmann, E., Molitor, A., & Schuetz, P. (2020). Role of procalcitonin use in the management of sepsis. *Journal of Thoracic Disease*, 12(Suppl 1), S5–S15. <https://doi.org/10.21037/jtd.2019.11.63>
52. Habib, G. (2019). How do we reduce embolic risk and mortality in infective endocarditis? Measure the size of the vegetation and operate early in patients with large vegetations. *European Heart Journal*, 40(27), 2252–2254. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz354>
53. Habib, G., Lancellotti, P., Antunes, M. J., Bongioni, M. G., Casalta, J.-P., Del Zotti, F., Dulgheru, R., El Khoury, G., Erba, P. A., Iung, B., Miro, J. M., Mulder, B. J., Plonska-Gosciniak, E., Price, S., Roos-Hesselink, J., Snygg-Martin, U., Thuny, F., Tornos Mas, P., Vilacosta, I., & Zamorano, J. L. (2015). 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 As. *European Heart Journal*, 36(44), 3075–3128. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv319>
54. Haddad, S. F., DeSimone, D. C., Chesdachai, S., Gerberi, D. J., & Baddour, L. M. (2022). Utility of Metagenomic Next-Generation Sequencing in Infective Endocarditis: A Systematic Review. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11121798>
55. Han, S. M., Sorabella, R. A., Vasan, S., Grbic, M., Lambert, D., Prasad, R., Wang, C., Kurlansky, P., Borger, M. A., Gordon, R., & George, I. (2017). Influence of Staphylococcus aureus on Outcomes after Valvular Surgery for Infective Endocarditis. *Journal of Cardiothoracic Surgery*, 12(1), 57. <https://doi.org/10.1186/s13019-017-0623-3>

56. Hannachi, N., Lepidi, H., Fontanini, A., Takakura, T., Bou-Khalil, J., Gourié, F., Habib, G., Raoult, D., Camoin-Jau, L., & Baudoin, J.-P. (2020). A Novel Approach for Detecting Unique Variations among Infectious Bacterial Species in Endocarditic Cardiac Valve Vegetation. *Cells*, *9*(8). <https://doi.org/10.3390/cells9081899>
57. Heiro, M., Helenius, H., Hurme, S., Savunen, T., Engblom, E., Nikoskelainen, J., & Kotilainen, P. (2007). Short-term and one-year outcome of infective endocarditis in adult patients treated in a Finnish teaching hospital during 1980–2004. *BMC Infectious Diseases*, *7*, 78. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-7-78>
58. Hoen, B., Alla, F., Selton-Suty, C., Béguinot, I., Bouvet, A., Briancón, S., Casalta, J.-P., Danchin, N., Delahaye, F., Etienne, J., Le Moing, V., Leport, C., Mainardi, J.-L., Ruimy, R., & Vandenesch, F. (2002). Changing profile of infective endocarditis: results of a 1-year survey in France. *JAMA*, *288*(1), 75–81. <https://doi.org/10.1001/jama.288.1.75>
59. Holland, T. L., Baddour, L. M., Bayer, A. S., Hoen, B., Miro, J. M., & Fowler, V. G. J. (2016). Infective endocarditis. *Nature Reviews. Disease Primers*, *2*, 16059. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.59>
60. Huang, J., Hong, W., Wan, M., & Zheng, L. (2022). Molecular mechanisms and therapeutic target of NETosis in diseases. *MedComm*, *3*(3), e162. <https://doi.org/10.1002/mco2.162>
61. Huang, S. U.-S., & O’Sullivan, K. M. (2022). The Expanding Role of Extracellular Traps in Inflammation and Autoimmunity: The New Players in Casting Dark Webs. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(7). <https://doi.org/10.3390/ijms23073793>
62. Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2007). 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*, *45*(9), 2761–2764. <https://doi.org/10.1128/JCM.01228-07>
63. Jukic, A., Bakiri, L., Wagner, E. F., Tilg, H., & Adolph, T. E. (2021). Calprotectin: from biomarker to biological function. *Gut*, *70*(10), 1978–1988. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2021-324855>
64. Jung, C.-J., Yeh, C.-Y., Hsu, R.-B., Lee, C.-M., Shun, C.-T., & Chia, J.-S. (2015). Endocarditis Pathogen Promotes Vegetation Formation by Inducing Intravascular Neutrophil Extracellular Traps Through Activated Platelets. *Circulation*, *131*(6), 571–581. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.011432>
65. Kao, P. H.-N., Ch’ng, J.-H., Chong, K. K. L., Stocks, C. J., Wong, S. L., & Kline, K. A. (2023). *Enterococcus faecalis* suppresses *Staphylococcus aureus*-induced NETosis and promotes bacterial survival in polymicrobial infections. *FEMS Microbes*, *4*, xtad019. <https://doi.org/10.1093/femsmc/xtad019>
66. Kaplan, M. J., & Radic, M. (2012). Neutrophil extracellular traps: double-edged swords of innate immunity. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *189*(6), 2689–2695. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1201719>
67. Keller, K., von Bardeleben, R. S., Ostad, M. A., Hobohm, L., Munzel, T., Konstantinides, S., & Lankeit, M. (2017). Temporal Trends in the Prevalence of Infective Endocarditis in Germany Between 2005 and 2014. *The American Journal of Cardiology*, *119*(2), 317–322. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2016.09.035>
68. Keshari, R. S., Jyoti, A., Kumar, S., Dubey, M., Verma, A., Srinag, B. S., Krishnamurthy, H., Barthwal, M. K., & Dikshit, M. (2012). Neutrophil extracellular traps contain mitochondrial as well as nuclear DNA and exhibit inflammatory potential. *Cytometry. Part A: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, *81*(3), 238–247. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.21178>
69. Kim, J. H., Lee, H. J., Ku, N. S., Lee, S. H., Lee, S., Choi, J. Y., & Yeom, J.-S. (2021). Infective endocarditis at a tertiary care hospital in South Korea. *Heart (British Cardiac Society)*, *107*(2), 135–141. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2020-317265>
70. Kim, S.-J., & Jenne, C. N. (2016). Role of platelets in neutrophil extracellular trap (NET) production and tissue injury. *Seminars in Immunology*, *28*(6), 546–554. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2016.10.013>

71. Kong, W. K. F., Salsano, A., Giacobbe, D. R., Popescu, B. A., Laroche, C., Duval, X., Schueler, R., Moreo, A., Colonna, P., Piper, C., Calvo-Iglesias, F., Badano, L. P., Srdanovic, I., Boutoille, D., Huttin, O., Stöhr, E., Timóteo, A. T., Vaskelyte, J. J., Sadeghpour, A., ... Lancellotti, P. (2022). Outcomes of culture-negative vs. culture-positive infective endocarditis: the ESC-EORP EURO-ENDO registry. *European Heart Journal*, *43*(29), 2770–2780. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac307>
72. Kuo, Y.-M., Lin, Y.-C., Lee, M.-J., Chen, J.-W., Hsu, C.-C., Huang, T.-Y., Chen, J.-H., Tzeng, S.-J., Chiu, Y.-L., Wang, S.-R., Chia, J.-S., Hsieh, S.-C., & Jung, C.-J. (2022). Biomarker of neutrophil extracellular traps is associated with deep-seated infections and predicts mortality and cardiovascular morbidity in commensal streptococcal bacteremia. *Journal of Microbiology, Immunology, and Infection = Wei Mian Yu Gan Ran Za Zhi*, *55*(5), 860–869. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2022.04.009>
73. Kupferwasser, L. I., & Bayer, A. S. (2001). [Culture-negative endocarditis: etiology, diagnosis, management and therapy]. *Herz*, *26*(6), 398–408. <https://doi.org/10.1007/s00059-001-2314-y>
74. Lam, F. W., & Rumbaut, R. E. (2015). Platelets mediate acetaminophen hepatotoxicity. *Blood*, *126*(15), 1738–1739. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-07-659516>
75. Lamas, C. C., Fournier, P.-E., Zappa, M., Brandão, T. J. D., Januário-da-Silva, C. A., Correia, M. G., Barbosa, G. I. F., Golebiovski, W. F., Weksler, C., Lepidi, H., & Raoult, D. (2016). Diagnosis of blood culture-negative endocarditis and clinical comparison between blood culture-negative and blood culture-positive cases. *Infection*, *44*(4), 459–466. <https://doi.org/10.1007/s15010-015-0863-x>
76. LeGuyader, A., Watanabe, R., Berbé, J., Boumediene, A., Cogné, M., & Laskar, M. (2006). Platelet activation after aortic prosthetic valve surgery☆. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery*, *5*(1), 60–64. <https://doi.org/10.1510/icvts.2005.115733>
77. Lenz, C. J., Mankad, R., Klarich, K., Kurmann, R., & McBane, R. D. (2020). Antiphospholipid syndrome and the relationship between laboratory assay positivity and prevalence of non-bacterial thrombotic endocarditis: A retrospective cohort study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis : JTH*, *18*(6), 1408–1414. <https://doi.org/10.1111/jth.14798>
78. Lepeschkin, E. (1952). On the relation between the site of valvular involvement in endocarditis and the blood pressure resting on the valve. *The American Journal of the Medical Sciences*, *224*(3), 318–319. <https://doi.org/10.1097/00000441-195209000-00011>
79. Lerman, I., & Hammes, S. R. (2018). Neutrophil elastase in the tumor microenvironment. *Steroids*, *133*, 96–101. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2017.11.006>
80. Li, J. S., Sexton, D. J., Mick, N., Nettles, R., Fowler Jr., V. G., Ryan, T., Bashore, T., & Corey, G. R. (2000). Proposed Modifications to the Duke Criteria for the Diagnosis of Infective Endocarditis. *Clinical Infectious Diseases*, *30*(4), 633–638. <https://doi.org/10.1086/313753>
81. Liesenborghs, L., Meyers, S., Lox, M., Criel, M., Claes, J., Peetermans, M., Trenson, S., Vande Velde, G., Vanden Berghe, P., Baatsen, P., Missiakas, D., Schneewind, O., Peetermans, W. E., Hoylaerts, M. F., Vanassche, T., & Verhamme, P. (2019). Staphylococcus aureus endocarditis: distinct mechanisms of bacterial adhesion to damaged and inflamed heart valves. *European Heart Journal*, *40*(39), 3248–3259. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz175>
82. Liesenborghs, L., Meyers, S., Vanassche, T., & Verhamme, P. (2020). Coagulation: At the heart of infective endocarditis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis : JTH*, *18*(5), 995–1008. <https://doi.org/10.1111/jth.14736>
83. Lomas, J. M., Martínez-Marcos, F. J., Plata, A., Ivanova, R., Gálvez, J., Ruiz, J., Reguera, J. M., Noureddine, M., de la Torre, J., & de Alarcón, A. (2010). Healthcare-associated infective endocarditis: an undesirable effect of healthcare universalization. *Clinical Microbiology and Infection*, *16*(11), 1683–1690. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03043.x>
84. Manley, H. R., Keightley, M. C., & Lieschke, G. J. (2018). The Neutrophil Nucleus: An Important Influence on Neutrophil Migration and Function. *Frontiers in Immunology*, *9*, 2867. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02867>

85. Mardis, E. R. (2008). Next-generation DNA sequencing methods. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 9, 387–402. <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.9.081307.164359>
86. Martin, D. R., Witten, J. C., Tan, C. D., Rodriguez, E. R., Blackstone, E. H., Pettersson, G. B., Seifert, D. E., Willard, B. B., & Apte, S. S. (2020). Proteomics identifies a convergent innate response to infective endocarditis and extensive proteolysis in vegetation components. *JCI Insight*, 5(14). <https://doi.org/10.1172/jci.insight.135317>
87. Millar, B., Moore, J., Mallon, P., Xu, J., Crowe, M., McClurg, R., Raoult, D., Earle, J., Hone, R., & Murphy, P. (2001). Molecular diagnosis of infective endocarditis – a new Duke’s criterion. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 33(9), 673–680. <https://doi.org/10.1080/00365540110026764>
88. Mohanan, S., Gopalan Nair, R., Vellani, H., C G, S., George, B., & M N, K. (2018). Baseline C-reactive protein levels and prognosis in patients with infective endocarditis: A prospective cohort study. *Indian Heart Journal*, 70, S43–S49. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ihj.2018.05.001>
89. Murdoch, D. R., Corey, G. R., Hoen, B., Miró, J. M., Fowler Jr, V. G., Bayer, A. S., Karchmer, A. W., Olaison, L., Pappas, P. A., Moreillon, P., Chambers, S. T., Chu, V. H., Falcó, V., Holland, D. J., Jones, P., Klein, J. L., Raymond, N. J., Read, K. M., Tripodi, M. F., ... Investigators, I. C. on E.-P. C. S. (ICE-P. (2009). Clinical presentation, etiology, and outcome of infective endocarditis in the 21st century: the International Collaboration on Endocarditis-Prospective Cohort Study. *Archives of Internal Medicine*, 169(5), 463–473. <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2008.603>
90. Muthiah, A., Beitnes, J. O., & Skulstad, H. (2020). Patients with infective endocarditis referred to Division of Cardiovascular and Pulmonary Diseases at Oslo University Hospital between 2014 and 2017. *Scandinavian Cardiovascular Journal : SCJ*, 54(4), 258–264. <https://doi.org/10.1080/14017431.2020.1734232>
91. Narasaraju, T., Yang, E., Samy, R. P., Ng, H. H., Poh, W. P., Liew, A.-A., Phoon, M. C., van Rooijen, N., & Chow, V. T. (2011). Excessive neutrophils and neutrophil extracellular traps contribute to acute lung injury of influenza pneumonitis. *The American Journal of Pathology*, 179(1), 199–210. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.03.013>
92. Neeser, O., Branche, A., Mueller, B., & Schuetz, P. (2019). How to: implement procalcitonin testing in my practice. *Clinical Microbiology and Infection : The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 25(10), 1226–1230. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.12.028>
93. Neubert, E., Meyer, D., Rocca, F., Günay, G., Kwaczala-Tessmann, A., Grandke, J., Senger-Sander, S., Geisler, C., Egner, A., Schön, M. P., Erpenbeck, L., & Kruss, S. (2018). Chromatin swelling drives neutrophil extracellular trap release. *Nature Communications*, 9(1), 3767. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06263-5>
94. Noshak, M. A., Rezaee, M. A., Hasani, A., & Mirzaii, M. (2020). The Role of the Coagulase-negative Staphylococci (CoNS) in Infective Endocarditis; A Narrative Review from 2000 to 2020. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 21(12), 1140–1153. <https://doi.org/10.2174/1389201021666200423110359>
95. Noubiap, J. J., Nkeck, J. R., Kwondom, B. S., & Nyaga, U. F. (2022). Epidemiology of infective endocarditis in Africa: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Global Health*, 10(1), e77–e86. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(21\)00400-9](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(21)00400-9)
96. Okaro, U., Addisu, A., Casanas, B., & Anderson, B. (2017). Bartonella Species, an Emerging Cause of Blood-Culture-Negative Endocarditis. *Clinical Microbiology Reviews*, 30(3), 709–746. <https://doi.org/10.1128/CMR.00013-17>
97. Olmos, C., Vilacosta, I., Fernández, C., Sarriá, C., López, J., Del Trigo, M., Ferrera, C., Vivas, D., Maroto, L., Hernández, M., Rodríguez, E., & San Román, J. A. (2014). Comparison of clinical features of left-sided infective endocarditis involving previously normal versus previously abnormal valves. *The American Journal of Cardiology*, 114(2), 278–283. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2014.04.036>

98. Onouchi, T., Shioyama, K., Mizutani, Y., Takaki, T., & Tsutsumi, Y. (2016). Visualization of Neutrophil Extracellular Traps and Fibrin Meshwork in Human Fibrinopurulent Inflammatory Lesions: III. Correlative Light and Electron Microscopic Study. *Acta Histochemica et Cytochemica*, 49(5), 141–147. <https://doi.org/10.1267/ahc.16028>
99. Osler, W. (1885). The Gulstonian Lectures, on Malignant Endocarditis. *British Medical Journal*, 1(1262), 467–470. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.1262.467>
100. Pant, S., Patel, N. J., Deshmukh, A., Golwala, H., Patel, N., Badheka, A., Hirsch, G. A., & Mehta, J. L. (2015). Trends in infective endocarditis incidence, microbiology, and valve replacement in the United States from 2000 to 2011. *Journal of the American College of Cardiology*, 65(19), 2070–2076. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.03.518>
101. Papayannopoulos, V., Metzler, K. D., Hakkim, A., & Zychlinsky, A. (2010). Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps. *The Journal of Cell Biology*, 191(3), 677–691. <https://doi.org/10.1083/jcb.201006052>
102. Patel, S., Richert, M. E., White, R., Lambing, T., & Saleeb, P. (2019). A Case of Bartonella Quintana Culture-Negative Endocarditis. *The American Journal of Case Reports*, 20, 602–606. <https://doi.org/10.12659/AJCR.915215>
103. Pettersson, G. B., & Hussain, S. T. (2019). Current AATS guidelines on surgical treatment of infective endocarditis. *Annals of Cardiothoracic Surgery*, 8(6), 630–644. <https://doi.org/10.21037/acs.2019.10.05>
104. Phua, J., Ngerng, W. J., See, K. C., Tay, C. K., Kiong, T., Lim, H. F., Chew, M. Y., Yip, H. S., Tan, A., Khalizah, H. J., Capistrano, R., Lee, K. H., & Mukhopadhyay, A. (2013). Characteristics and outcomes of culture-negative versus culture-positive severe sepsis. *Critical Care*, 17(5), R202. <https://doi.org/10.1186/cc12896>
105. Pilszczek, F. H., Salina, D., Poon, K. K. H., Fahey, C., Yipp, B. G., Sibley, C. D., Robbins, S. M., Green, F. H. Y., Surette, M. G., Sugai, M., Bowden, M. G., Hussain, M., Zhang, K., & Kubes, P. (2010). A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to *Staphylococcus aureus*. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 185(12), 7413–7425. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1000675>
106. Que, Y.-A., & Moreillon, P. (2011). Infective endocarditis. *Nature Reviews. Cardiology*, 8(6), 322–336. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2011.43>
107. Rabinovich, S., Evans, J., Smith, I. M., & January, L. E. (1965). A long-term view of bacterial endocarditis. 337 Cases 1924 to 1963. *Annals of Internal Medicine*, 63, 185–198. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-63-2-185>
108. Raoult, D., Fournier, P.-E., Vandenesch, F., Mainardi, J.-L., Eykyn, S. J., Nash, J., James, E., Benoit-Lemercier, C., & Marrie, T. J. (2003). Outcome and Treatment of Bartonella Endocarditis. *Archives of Internal Medicine*, 163(2), 226–230. <https://doi.org/10.1001/archinte.163.2.226>
109. Raybould, J. E., Raybould, A. L., Morales, M. K., Zaheer, M., Lipkowitz, M. S., Timpone, J. G., & Kumar, P. N. (2016). Bartonella Endocarditis and Pauci-Immune Glomerulonephritis: A Case Report and Review of the Literature. *Infectious Diseases in Clinical Practice*, 24(5). [https://journals.lww.com/infctdis/Fulltext/2016/09000/Bartonella\\_Endocarditis\\_and\\_Pauci\\_Immune.3.aspx](https://journals.lww.com/infctdis/Fulltext/2016/09000/Bartonella_Endocarditis_and_Pauci_Immune.3.aspx)
110. Rodríguez-García, R., Rodríguez-Esteban, M. Á., Fernández-Suárez, J., Morilla, A., García-Carús, E., Telenti, M., Morales, C., Albaiceta, G. M., & Fernández, J. (2021). Evaluation of 16S rDNA Heart Tissue PCR as a Complement to Blood Cultures for the Routine Etiological Diagnosis of Infective Endocarditis. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/diagnostics11081372>
111. Rohn, V., Laca, B., Horn, M., Vlk, L., Antonova, P., & Mosna, F. (2020). Surgery in drug use-associated infective endocarditis: long-term survival is negatively affected by recurrence. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*, 30(4), 528–534. <https://doi.org/10.1093/icvts/ivz302>

112. Rosen, P., & Armstrong, D. (1973). Nonbacterial thrombotic endocarditis in patients with malignant neoplastic diseases. *The American Journal of Medicine*, *54*(1), 23–29. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(73\)90079-x](https://doi.org/10.1016/0002-9343(73)90079-x)
113. Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *74*(12), 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
114. Santibáñez, P., García-García, C., Portillo, A., Santibáñez, S., García-Álvarez, L., de Toro, M., & Oteo, J. A. (2021). What Does 16S rRNA Gene-Targeted Next Generation Sequencing Contribute to the Study of Infective Endocarditis in Heart-Valve Tissue? *Pathogens (Basel, Switzerland)*, *11*(1). <https://doi.org/10.3390/pathogens11010034>
115. Scheggi, V., Merilli, I., Marcucci, R., Del Pace, S., Olivotto, I., Zoppetti, N., Ceschia, N., Andrei, V., Alterini, B., Stefano, P. L., & Marchionni, N. (2021). Predictors of mortality and adverse events in patients with infective endocarditis: a retrospective real world study in a surgical centre. *BMC Cardiovascular Disorders*, *21*(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s12872-021-01853-6>
116. Selton-Suty, C., Célard, M., Le Moing, V., Doco-Lecompte, T., Chirouze, C., Iung, B., Strady, C., Revest, M., Vandenesch, F., Bouvet, A., Delahaye, F., Alla, F., Duval, X., & Hoen, B. (2012). Preeminence of *Staphylococcus aureus* in infective endocarditis: a 1-year population-based survey. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, *54*(9), 1230–1239. <https://doi.org/10.1093/cid/cis199>
117. Selton-Suty, C., Goehringer, F., Venner, C., Thivillier, C., Huttin, O., & Hoen, B. (2019). [Complications and prognosis of infective endocarditis]. *Presse medicale (Paris, France : 1983)*, *48*(5), 532–538. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2019.04.002>
118. Shaw, S. K., Ma, S., Kim, M. B., Rao, R. M., Hartman, C. U., Froio, R. M., Yang, L., Jones, T., Liu, Y., Nusrat, A., Parkos, C. A., & Lusinskas, F. W. (2004). Coordinated Redistribution of Leukocyte LFA-1 and Endothelial Cell ICAM-1 Accompany Neutrophil Transmigration . *Journal of Experimental Medicine*, *200*(12), 1571–1580. <https://doi.org/10.1084/jem.20040965>
119. Shendure, J., & Ji, H. (2008). Next-generation DNA sequencing. *Nature Biotechnology*, *26*(10), 1135–1145. <https://doi.org/10.1038/nbt1486>
120. Shrestha, N. K., Ledtke, C. S., Wang, H., Fraser, T. G., Rehm, S. J., Hussain, S. T., Pettersson, G. B., Blackstone, E. H., & Gordon, S. M. (2015). Heart valve culture and sequencing to identify the infective endocarditis pathogen in surgically treated patients. *The Annals of Thoracic Surgery*, *99*(1), 33–37. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2014.07.028>
121. Siciliano, R. F., Gualandro, D. M., Bittencourt, M. S., Paixão, M., Marcondes-Braga, F., Soeiro, A. de M., Strunz, C., Pacanaro, A. P., Puelacher, C., Tarasoutchi, F., Di Somma, S., Caramelli, B., de Oliveira Junior, M. T., Mansur, A. J., Mueller, C., Barretto, A. C. P., & Strabelli, T. M. V. (2020). Biomarkers for prediction of mortality in left-sided infective endocarditis. *International Journal of Infectious Diseases*, *96*, 25–30. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.009>
122. Siraki, A. G. (2021). The many roles of myeloperoxidase: From inflammation and immunity to biomarkers, drug metabolism and drug discovery. *Redox Biology*, *46*, 102109. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.102109>
123. Slipczuk, L., Codolosa, J. N., Davila, C. D., Romero-Corral, A., Yun, J., Pressman, G. S., & Figueredo, V. M. (2013). Infective endocarditis epidemiology over five decades: a systematic review. *PloS One*, *8*(12), e82665. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082665>
124. Snygg-Martin, U., Gustafsson, L., Rosengren, L., Alsiö, A., Ackerholm, P., Andersson, R., & Olaison, L. (2008). Cerebrovascular complications in patients with left-sided infective endocarditis are common: a prospective study using magnetic resonance imaging and neurochemical brain damage markers. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, *47*(1), 23–30. <https://doi.org/10.1086/588663>
125. Thayer, W. S. (1926). *Studies on bacterial (infective) endocarditis*. Johns Hopkins Press.

126. Thiene, G., & Basso, C. (2006). Pathology and pathogenesis of infective endocarditis in native heart valves. *Cardiovascular Pathology: The Official Journal of the Society for Cardiovascular Pathology*, 15(5), 256–263. <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2006.05.009>
127. Thornhill, M. H., Jones, S., Prendergast, B., Baddour, L. M., Chambers, J. B., Lockhart, P. B., & Dayer, M. J. (2018). Quantifying infective endocarditis risk in patients with predisposing cardiac conditions. *European Heart Journal*, 39(7), 586–595. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx655>
128. Thuny, F., Di Salvo, G., Belliard, O., Avierinos, J.-F., Pergola, V., Rosenberg, V., Casalta, J.-P., Gouvernet, J., Derumeaux, G., Iarussi, D., Ambrosi, P., Calabró, R., Riberi, A., Collart, F., Metras, D., Lepidi, H., Raoult, D., Harle, J.-R., Weiller, P.-J., ... Habib, G. (2005). Risk of embolism and death in infective endocarditis: prognostic value of echocardiography: a prospective multicenter study. *Circulation*, 112(1), 69–75. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.493155>
129. Tleyjeh, I. M., Abdel-Latif, A., Rahbi, H., Scott, C. G., Bailey, K. R., Steckelberg, J. M., Wilson, W. R., & Baddour, L. M. (2007). A systematic review of population-based studies of infective endocarditis. *Chest*, 132(3), 1025–1035. <https://doi.org/10.1378/chest.06-2048>
130. Toyoda, N., Chikwe, J., Itagaki, S., Gelijns, A. C., Adams, D. H., & Egorova, N. N. (2017). Trends in Infective Endocarditis in California and New York State, 1998-2013. *JAMA*, 317(16), 1652–1660. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.4287>
131. Trifunovic, D., Vujisic-Tesic, B., Obrenovic-Kircanski, B., Ivanovic, B., Kalimanovska-Ostic, D., Petrovic, M., Boricic-Kostic, M., Matic, S., Stevanovic, G., Marinkovic, J., Petrovic, O., Draganic, G., Tomic-Dragovic, M., Putnik, S., Markovic, D., Tutus, V., Jovanovic, I., Markovic, M., Petrovic, I. M., ... Stepanovic, J. (2018). The relationship between causative microorganisms and cardiac lesions caused by infective endocarditis: New perspectives from the contemporary cohort of patients. *Journal of Cardiology*, 71(3), 291–298. <https://doi.org/10.1016/j.jcc.2017.08.010>
132. Vorobjeva, N. V., & Chernyak, B. V. (2020). NETosis: Molecular Mechanisms, Role in Physiology and Pathology. *Biochemistry. Biokhimiia*, 85(10), 1178–1190. <https://doi.org/10.1134/S0006297920100065>
133. Wang, A., Gaca, J. G., & Chu, V. H. (2018). Management Considerations in Infective Endocarditis: A Review. *JAMA*, 320(1), 72–83. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.7596>
134. Wang, W., Chen, O., Liu, W., Gan, L., Li, X., Ma, Q., Hu, X., & Jian, X. (2022). Coxiella burnetii and Bartonella Endocarditis Diagnosed by Metagenomic Next-Generation Sequencing. In *Journal of Clinical Medicine* (Vol. 11, Issue 23). <https://doi.org/10.3390/jcm11237150>
135. Werdan, K., Dietz, S., Löffler, B., Niemann, S., Bushnaq, H., Silber, R.-E., Peters, G., & Müller-Werdan, U. (2014). Mechanisms of infective endocarditis: pathogen–host interaction and risk states. *Nature Reviews Cardiology*, 11(1), 35–50. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2013.174>
136. White, T. M. (1982). Haemostasis and Thrombosis. *JAMA*, 247(17), 2423.
137. Wu, Z., Chen, Y., Xiao, T., Niu, T., Shi, Q., & Xiao, Y. (2020). Epidemiology and risk factors of infective endocarditis in a tertiary hospital in China from 2007 to 2016. *BMC Infectious Diseases*, 20(1), 428. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05153-w>
138. Xavier, D., François, D., François, A., Pierre, T., Jean-François, O., Vincent, L. M., Thanh, D.-L., Marie, C., Claire, P., Christophe, S., Catherine, C., Michelle, B., Emmanuelle, C., Bernard, I., Christine, S.-S., Bruno, H., & null, null. (2012). Temporal Trends in Infective Endocarditis in the Context of Prophylaxis Guideline Modifications. *Journal of the American College of Cardiology*, 59(22), 1968–1976. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2012.02.029>
139. Ye, X. T., Buratto, E., Dimitriou, J., Yaftian, N., Wilson, A., Darby, J., & Newcomb, A. (2021). Right-Sided Infective Endocarditis: The Importance of Vegetation Size. *Heart, Lung & Circulation*, 30(5), 741–750. <https://doi.org/10.1016/j.hlc.2020.09.927>
140. Yipp, B. G., & Kubes, P. (2013). NETosis: how vital is it? *Blood*, 122(16), 2784–2794. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-04-457671>
141. Yuan, S.-M. (2016). Fungal Endocarditis. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*, 31(3), 252–255. <https://doi.org/10.5935/1678-9741.20160026>



142. Zamorano, J., Sanz, J., Moreno, R., Almería, C., Rodrigo, J. L., Samedí, M., Herrera, D., Aubele, A., Mataix, L., Serra, V., & Sánchez-Harguindey, L. (2001). Comparison of outcome in patients with culture-negative versus culture-positive active infective endocarditis. *The American Journal of Cardiology*, 87(12), 1423–1425. [https://doi.org/10.1016/s0002-9149\(01\)01570-3](https://doi.org/10.1016/s0002-9149(01)01570-3)

## Pateicības

Vēlos izteikt vislielāko pateicību maniem promocijas darba vadītājiem – profesoram **Pēterim Stradiņam** par veltīto laiku, atbalstu, motivāciju, pareizo virzienu norādīšanu, profesionālo un “dzīves skolu” un profesorei **Valērijai Gromai** par veltīto laiku, lielajām darbspējām, motivāciju, atbalstu, patiesi ieinteresēto palīdzību pētniecības un publikāciju rakstīšanas procesā.

Pateicība šī promocijas darba zinātniskajam konsultantam docentam **Aigaram Reinim** par atsaucību un palīdzību dažādajos jautājumos.

Īpašs paldies par lielo iesaisti un ieguldīto darbu morfoloģijas daļas pētniecībā dr. **Nikam Ričardam Goldiņam**.

Tāpat pateicība dr. **Arīnai Žuravļovai**, dr. **Jānim Dāvim Osipovam**, dr. **Franziska Johanna Burkhardt** un dr. **Laumai Apinei** par palīdzību pētījumu datu apkopošanā.

Palīdzībā ar statistiku vislielākā pateicība **Evai Petrošīnai** un **Šimonam Svirskim**.

Paldies profesoram **Ugam Dumpim** par idejām, ierosinājumiem, skaidrojumiem, kuri ļoti palīdzējuši tapt šim darbam.

Pateicība Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centra pētniekiem **Dr. biol. Dāvidam Frīdmanim** un **MSc. biol. Dītai Gudrajai** par palīdzību ar 16S rRNS NGS tehnoloģijas pētījumiem infekciozā endokardīta sakarā.

Darba veikšana nebūtu iespējama bez Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Sirds ķirurģijas centra darbinieku – manu kolēģu un draugu – atbalsta un līdzdalības, kuri vistiešākajā veidā ir piedalījušies šīs ārkārtīgi komplicētās patoloģijas ārstēšanā.

Pateicos arī pacientiem, kuri ar savu dalību pētījumos ir veicinājuši šī promocijas darba tapšanu.

Darbs ir veltīts manai ģimenei, īpaši sievai **Litai Meidropai** un meitām **Karlīnai** un **Kristijai Annai**, un mammai **Ārijai Meidropai**, viņām esmu ārkārtīgi pateicīgs par sapratni, pacietību, atbalstu, palīdzību un līdzī jušanu.

## **Pielikumi**

Centrālās medicīnas ētikas komitejas atļauja

## Centrālā medicīnas ētikas komiteja

Brīvības iela 72, Rīga, LV-1011 • Tālr. 67876182 • Fakss 67876071 • E-pasts: vm@vm.gov.lv

Rīgā

Datums skatāms laika zīmogā Nr. 01-29.1/2737  
Uz 26.03.2020. Nr. \_\_\_\_\_

VSIA "Paula Stradiņa klīniskā  
universitātes slimnīca"  
Sirds ķirurģijas centra  
Dr. Kristiānam Meidropam

*Atzinums par pētījumu  
"Nelabvēlīgu iznākumu noteicošo  
faktoru analīze pacientiem ar sirds  
vārstuļu infekciozo endokardītu"*

Centrālā medicīnas ētikas komiteja 2020.gada 22.maijā izskatīja VSIA "Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca" Sirds ķirurģijas centra Dr. Kristiāna Meidropa precizēto 2020.gada 23.janvāra pieteikumu atzinuma sniegšanai par pētījumu "Nelabvēlīgu iznākumu noteicošo faktoru analīze pacientiem ar sirds vārstuļu infekciozo endokardītu" (reģ. Veselības ministrijā 2020.gada 23.aprīlī Nr.5070).

Atbilstoši Centrālā medicīnas ētikas komitejas 2020.gada 22.maija sēdes protokola Nr.2020-6 II daļas 4.punktam tiek sniegts atzinums, ka iepriekš minētais pētījums nav pretrunā bioētikas normām.

Centrālās medicīnas ētikas  
komitejas priekšsēdētājs

(paraksts\*)

V. Sīlis

A.Rubins, 67876062  
andrejs.rubins@vm.gov.lv

**Pacientu informētas piekrišanas veidlapa latviešu valodā**  
**PACIENTA INFORMĒTAS PIEKRIŠANAS VEIDLAPA**

Pētnieks: dr. Kristiāns Meidrops, asoc. prof. Pēteris Stradiņš, prof. Valērija Groma, dr. med.

Mārtiņš Kalējs, dr. med. Aigars Reinis, dr. biol. Dāvids Frīdmanis

Medicīniskais centrs: Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca

Telefons: 22318008

Adrese: Pilsoņu iela 13, Rīga, LV-1002

**Nelabvēlīgu iznākumu noteicošo faktoru analīze pacientiem ar infekciozo endokardītu**

Cienjamais pacient! Jūs esat uzaicināts/-a piedalīties šajā pētījumā, jo atbilstiet pētījuma iekļaušanas kritērijiem.

Ir svarīgi, lai Jūs izlasītu un saprastu vairākus vispārējos principus, kurus piemēro visiem mūsu pētījuma dalībniekiem:

- Jums ir tiesības zināt, ka piekrišana ir pilnīgi brīvprātīga
- ka Jūs savu piekrišanu piedalīties šajā pētījumā varat atsaukt jebkurā laikā
- par Jūsu piedalīšanos nav paredzēts finansiāls atalgojums
- ka Jūsu atsacīšanās piedalīties pētījumā neietekmēs Jūsu pašreizējo medicīnisko aprūpi vai tās saņemšanu nākotnē.

**Pētījums**

Šajā pētījumā tiks ievākta informācija par Jūsu veselības stāvokli, blakus saslimšanām, lietotajiem medikamentiem, operācijas veidu utt. Tiks ievākta informācija par Jums veiktajām analīzēm un izmeklējumiem, kas veikti, atrodoties stacionārā. Bez visām standarta analīzēm pētījuma ietvaros tiks papildus paņemts asins analīžu stobriņš, lai konstatētu infekciozā endokardīta ierosinātāju mikroorganismu ar gēnu atpazīšanas ierīcēm. Jūsu operācijas laikā iegūtajam operācijas materiālam tiks veiktas visas analīzes un izmeklējumi, kas parasti tiek veikti pacientiem ar infekciozo endokardītu, kā arī papildus pētījuma grupas pacientiem tiks veikta vārstuļu un veģetāciju materiāla pētniecība. Tai skaitā gaismas mikroskopija, elektronmikroskopija, vārstuļu fragmentu analīzes ar nākamās paaudzes sekvencēšanas iekārtām, kā arī izdalītās mikroorganismu tīrkultūras analīze.

**Pētījuma mērķis**

Pētījuma mērķis ir noteikt iespējamus riska faktorus, kas saistīti ar endokardīta slimības smagāku gaitu.

### **Kādi ir pētījuma riski?**

Pētījuma veikšana saistīta ar minimālu risku, asins paraugus no vēnas noņems sertificēts ārstniecības personāls. Parauga ņemšanas vietā retos gadījumos var rasties neliels asins izplūdums, vēl retāk – neliels lokāls ādas iekaisums. Saistībā ar pētījumu netiks palielināts operācijā izņemto audu apjoms, kā tas būtu, neveicot šo pētījumu.

### **Vai dalība pētījumā sniedz kādus ieguvumus?**

Pedalīšanās pētījumā neparedz materiālu atalgojumu, kā arī neprasa no Jums finansiālus izdevumus. Piedaloties pētījumā, Jums arī būs iespēja iepazīties ar pētījuma rezultātiem.

### **Jautājums par konfidencialitāti**

- Jūsu personas dati netiks izpausti publiski un tiks izmantoti tikai pētījumā.
- Jūsu paraksts zemāk parāda, ka Jums bija iespēja izlasīt šo piekrišanas veidlapu, uzdot jautājumus un ka atbildes uz Jūsu jautājumiem ir apmierinošas. Jūs brīvprātīgi piekrītat piedalīties šajā pētījumā.

---

Dalībnieka vārds, uzvārds

---

Datums

---

Dalībnieka paraksts

**Pacientu informētas piekrišanas veidlapa krievu valodā**

**ФОРМА ИНФОРМИРОВАННОГО СОГЛАСИЯ ПАЦИЕНТА**

Исследователь: dr. Kristiāns Meidrops, asoc. prof. Pēteris Stradiņš, prof. Valērija Groma,  
dr.med. Mārtiņš Kalējs, dr.med. Aigars Reinis, dr.biol. Dāvids Frīdmanis

Медицинский центр: Клиническая университетская больница имени Паула Страдыня

Номер телефона: 22318008

Адрес: Pilsoņu iela 13, Rīga, LV-1002

**Анализ факторов способствующих неблагоприятному исходу у пациентов с  
инфекционным эндокардитом**

Уважаемый пациент! Приглашаем Вас принять участие в данном исследовании, по скольку соответствуете необходимым для него критериям. Важно, чтобы вы прочитали и поняли ряд общих принципов, которые применимы ко всем участникам нашего исследования

- Вы имеете право знать, что ваше согласие абсолютно добровольно
- Вы можете отозвать свое согласие участвовать в данном исследовании в любое время
- За ваше участие не предусматривается финансовая поддержка
- Ваш отказ от участия в исследовании не повлияет на ваше текущее или будущее медицинское обслуживание

**Исследование**

В данном исследовании собирается информация о вашем состоянии здоровья, сопутствующих заболеваниях, используемых медикаментах, операциях и т.д. Будет собрана информация об анализах и обследованиях за время госпитализации. В дополнении ко всем стандартным анализам, так же будет взята дополнительная пробирка анализа крови, для выявления микроорганизма, который вызвал инфекционный эндокардит, с помощью устройства следующего поколения для секвенирования генов. Материалу, полученному во время операции будут проведены все анализы и обследования, которые обычно проводятся всем пациентам с инфекционным эндокардитом, а так же группе пациентов, которые участвуют в исследовании, будет проведено дополнительное исследование клапанов сердца и вегетаций. К этому относятся световая микроскопия, электронная микроскопия, анализ фрагментов клапанов с помощью оборудования следующего поколения для секвенирования и анализ изолированных культур микроорганизмов.

### **Цель исследования**

Целью исследования является выявление возможных факторов риска, связанных с более тяжелым течением заболевания инфекционным эндокардитом.

### **Какие риски исследования?**

Исследование связано с минимальным риском, образцы крови будут взяты сертифицированным медицинским сотрудником. В местах изъятия проб в редких случаях может возникнуть небольшое кровотечение, еще реже – небольшое местное воспаление кожи. Исследование не увеличивает количество ткани, удаленной во время операции, в сравнении с операцией без участия в исследовании.

### **Есть ли преимущества участия в исследовании?**

Участие в исследовании не предполагает материального вознаграждения или финансовых затрат. Принимая участие в исследовании, вы также сможете ознакомиться с результатами исследования.

### **Вопрос о конфиденциальности**

- Ваши личные данные не будут разглашаться и будут использоваться только в целях исследования.
- Ваша подпись ниже показывает, что у вас была возможность прочитать эту форму согласия, задать вопросы, и ответы на ваши вопросы были удовлетворительными. Вы добровольно соглашаетесь участвовать в данном исследовании.

---

Имя и Фамилия участника

---

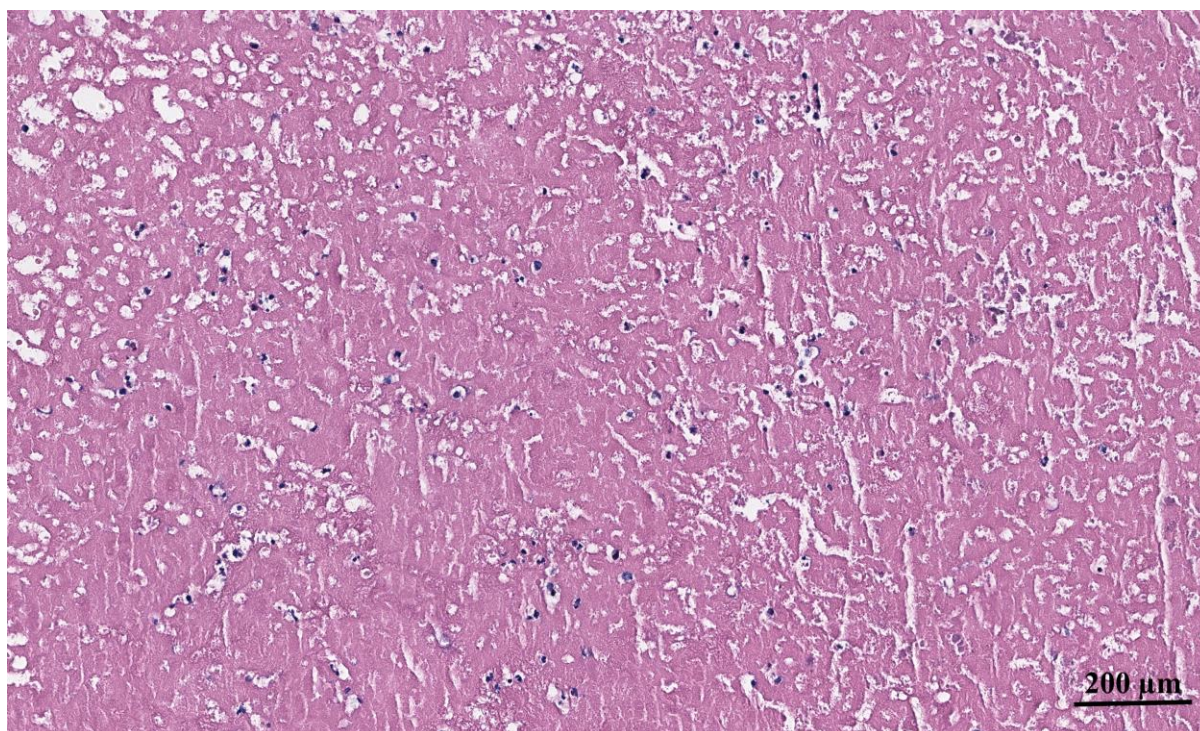
Дата

---

Подпись участника

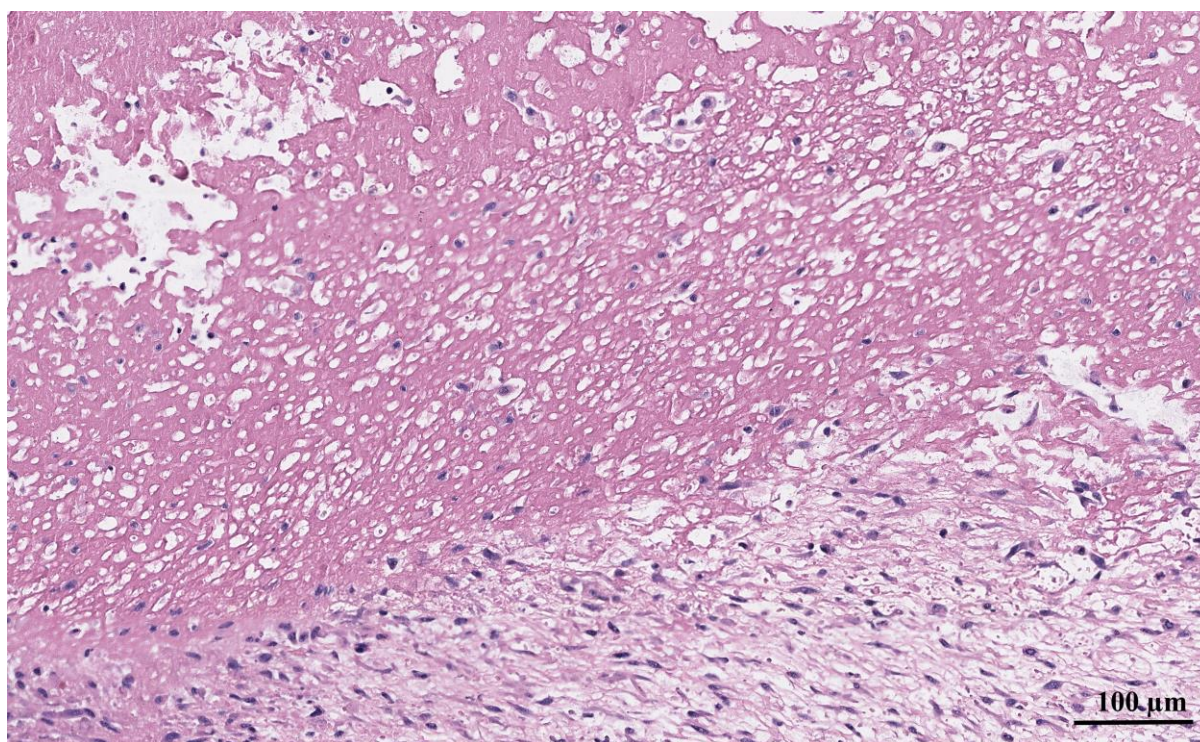


**Histoķīmijas atrades dažādu IE izraisīto mikroorganismu gadījumos sirds vārstu lapīņos  
audos un veģetācijā**



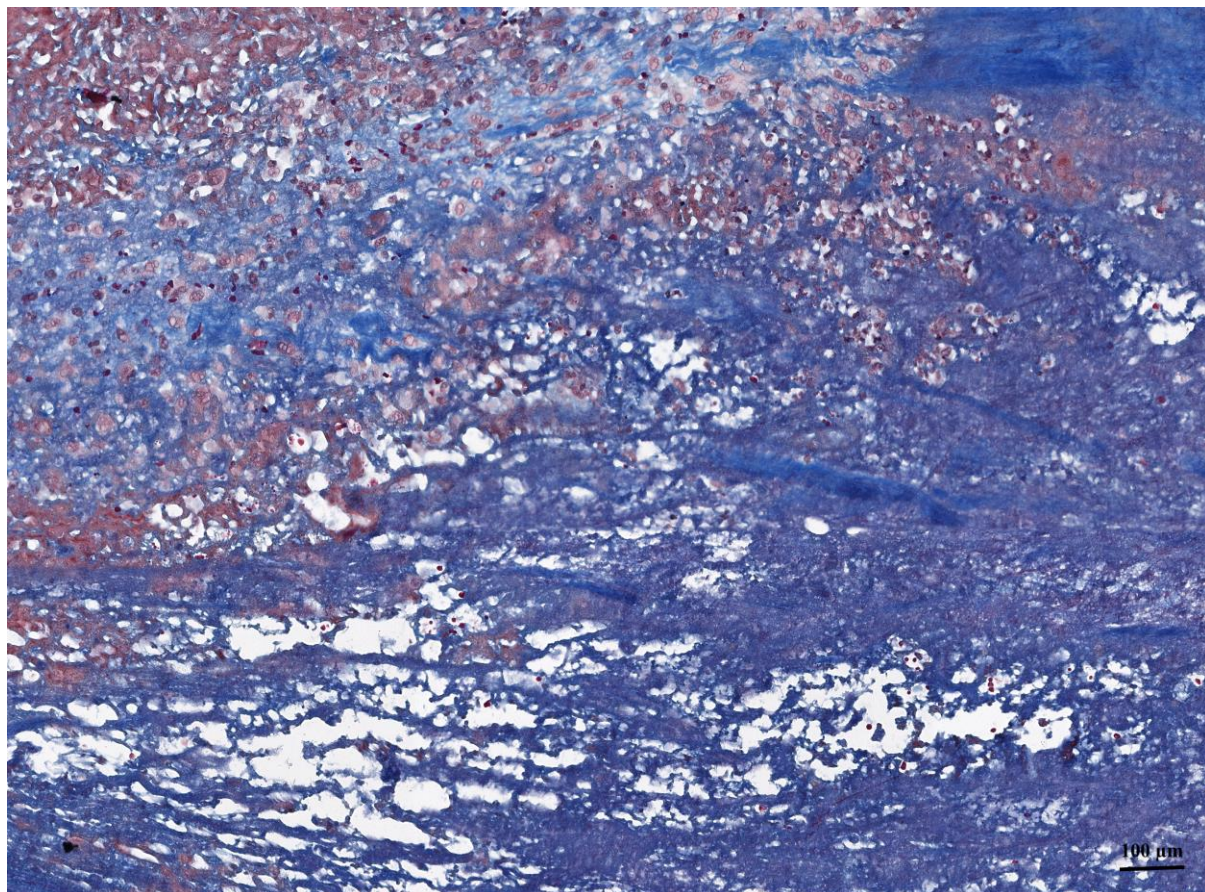
1. attēls. *Ne-Bartonella spp.* pacienta veģetācijas fragments\*

\* Hematoksilīns & eozīns.



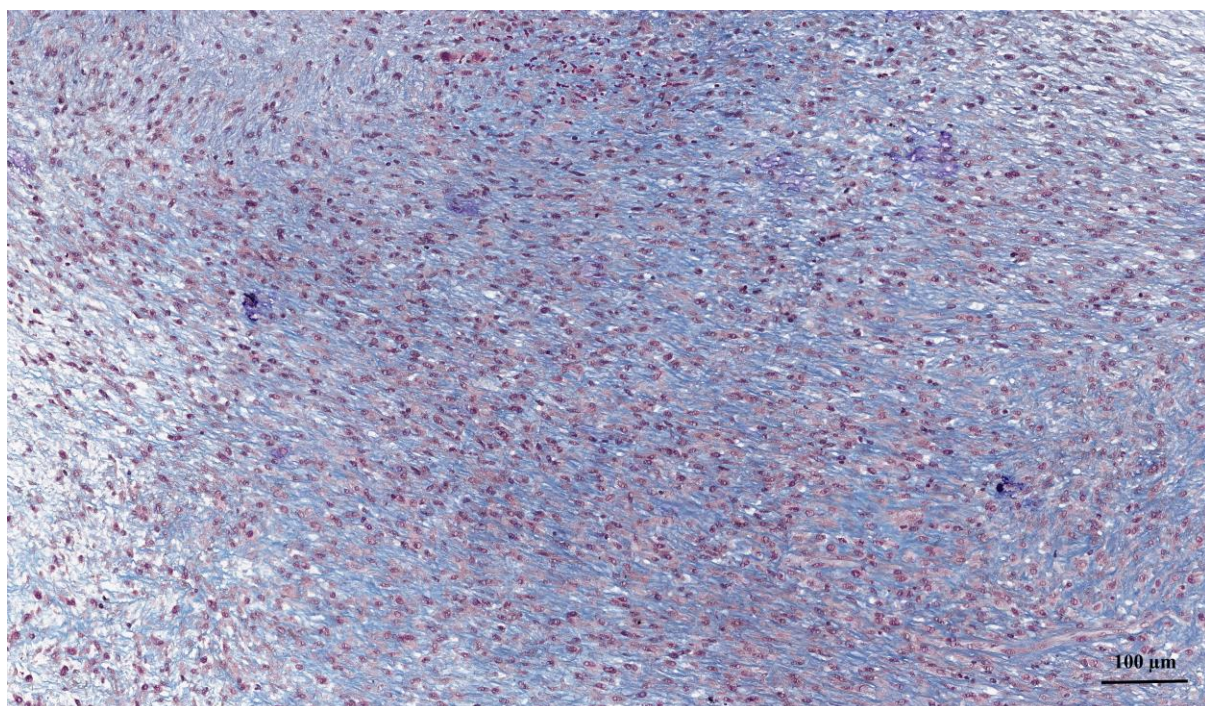
2. attēls. *Bartonella spp.* pacienta veģetācijas fragments\*

\* Hematoksilīns & eozīns.



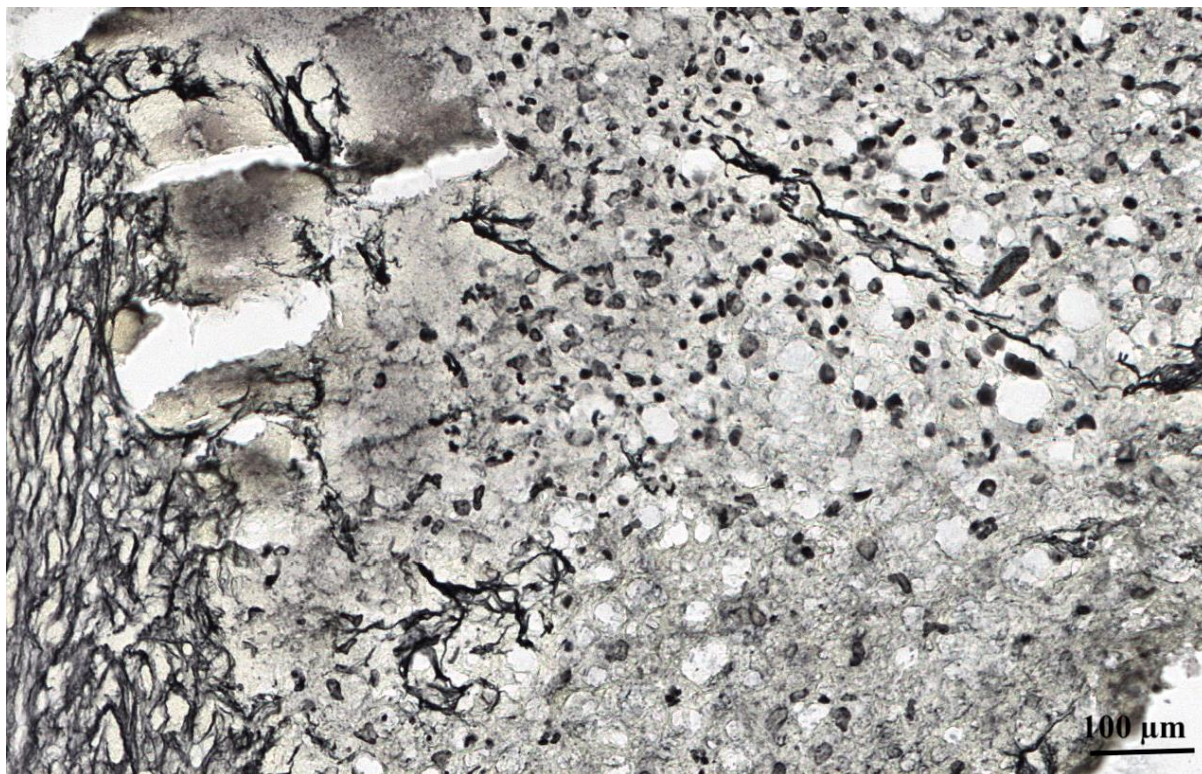
3. attēls. *Ne-Bartonella spp.* pacienta veģetācijas fragments\*

\* Masona reakcija.



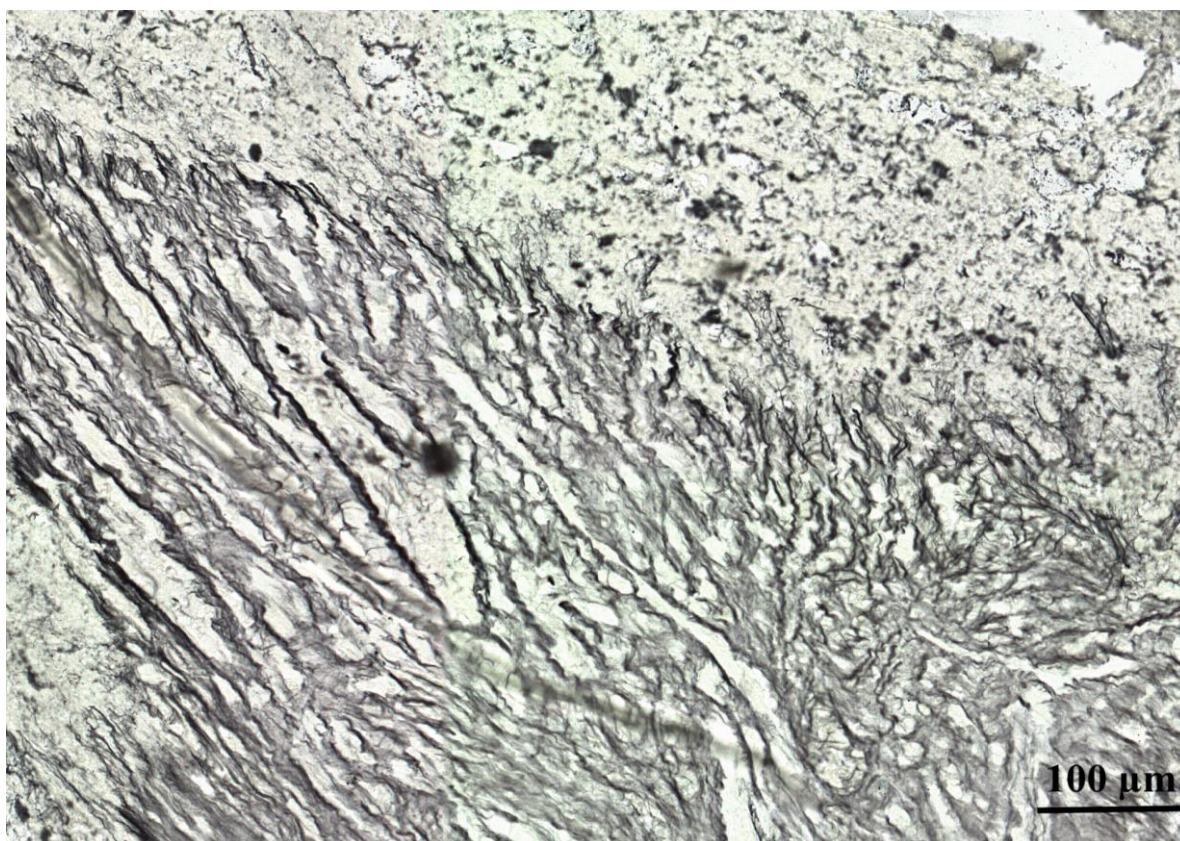
4. attēls. *Ne-Bartonella spp.* pacienta vārstuļa lapiņa ar paaugstinātu celularitāti\*

\* Masona reakcija.



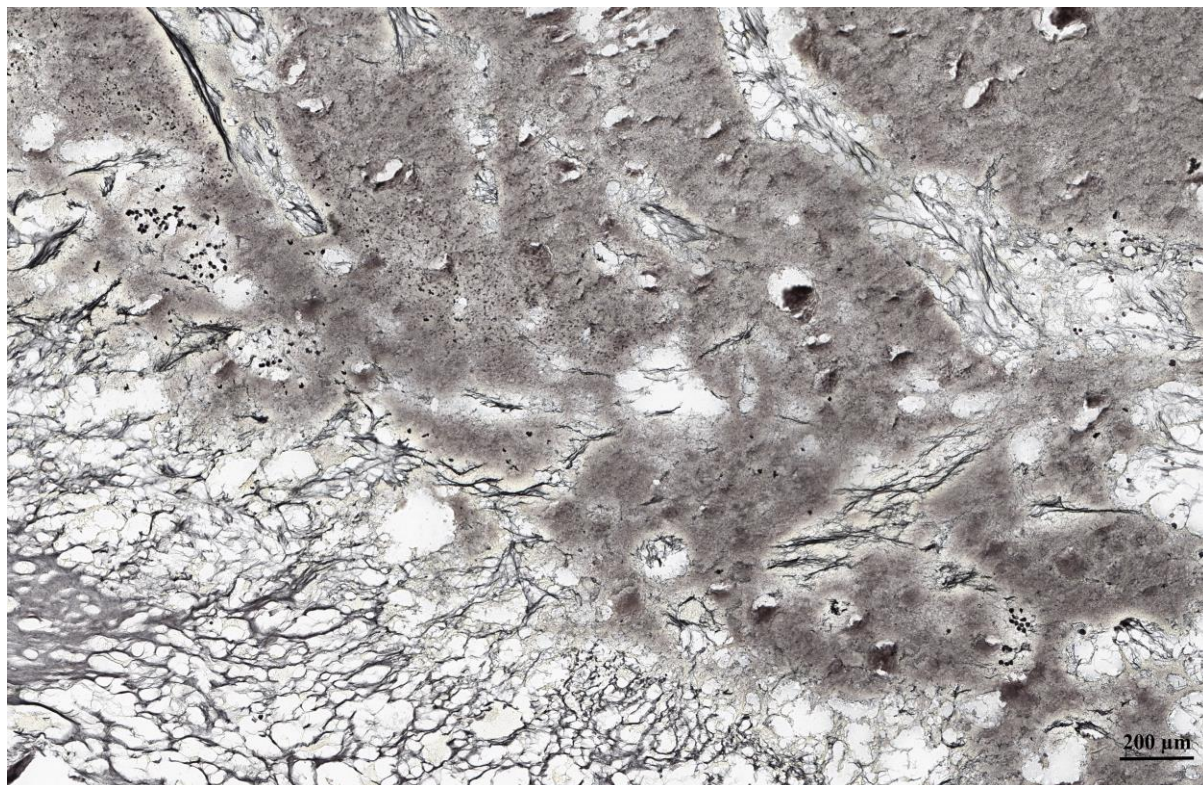
5. attēls. *Bartonella* spp. pacienta veģetācijas fragments\*

\* Retikulārās šķiedras.



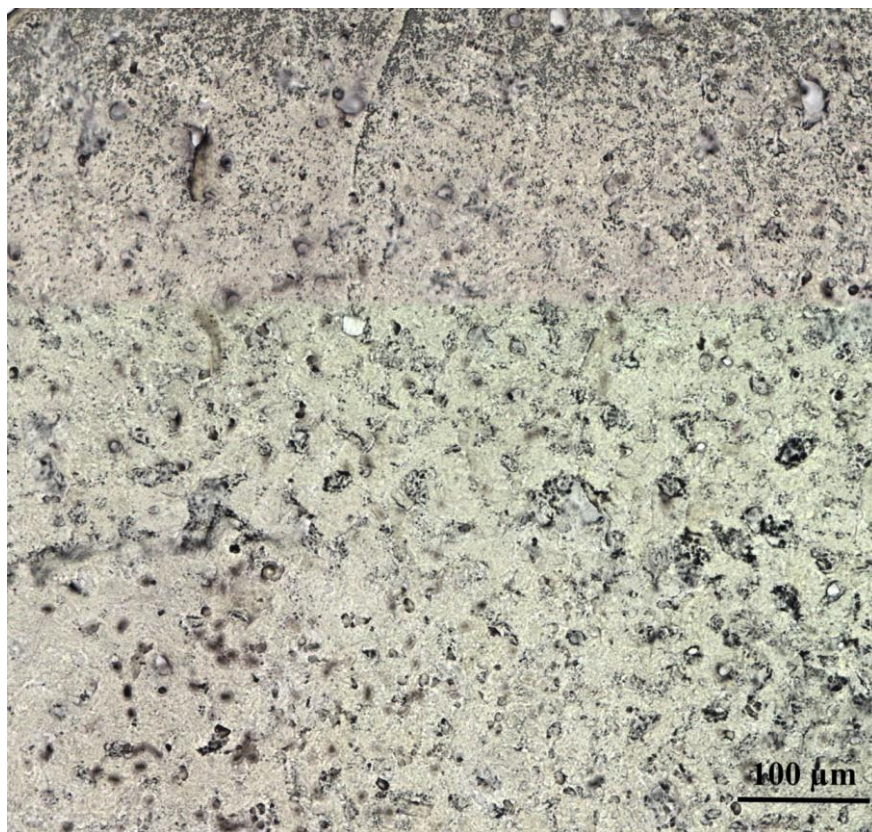
6. attēls. *Ne-Bartonella* spp. grupas pacienta aortas vārstuļa lapiņas un veģetācijas fragments\*

\* Retikulārās šķiedras.



7. attēls. *Bartonella spp.* IE pacienta veģetācijas fragments\*

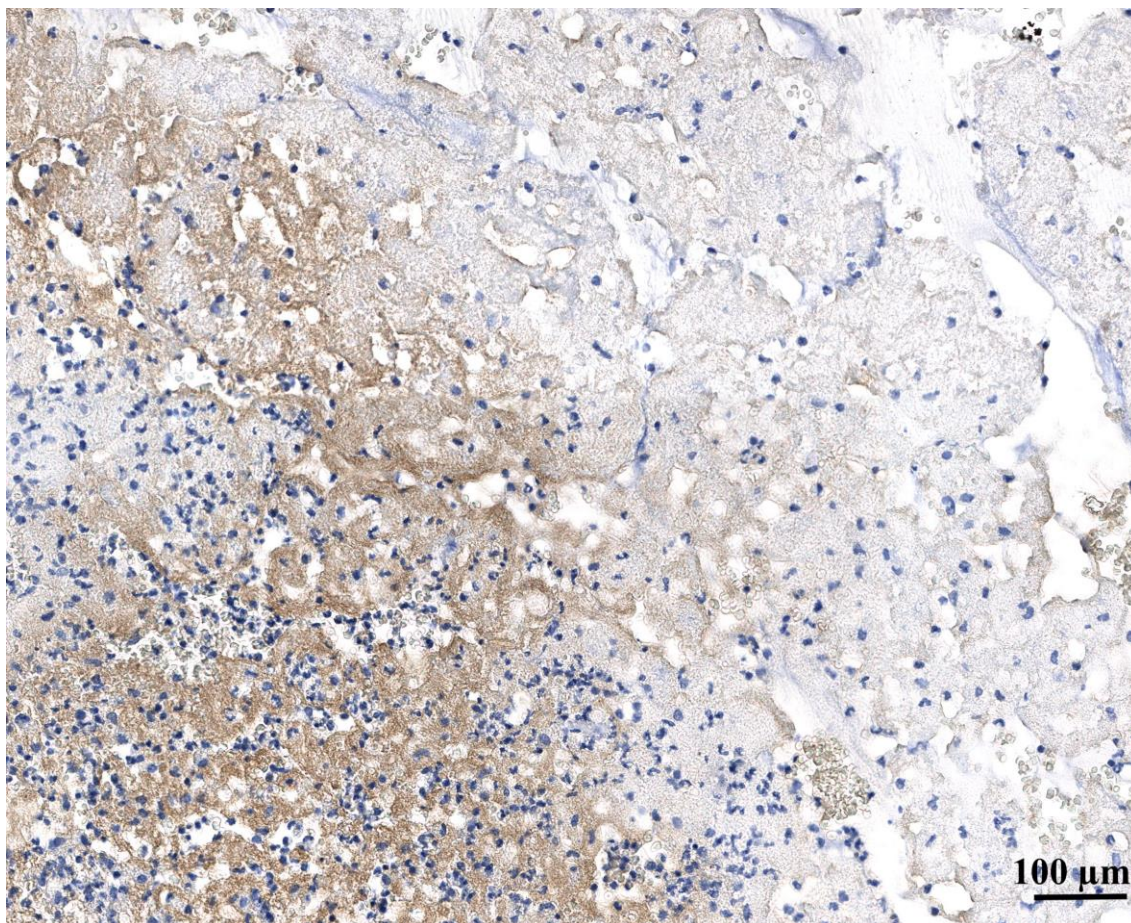
\* Retikulārās šķiedras.



8. attēls. *Ne-Bartonella spp.* IE pacienta baktēriju kolonijas\*

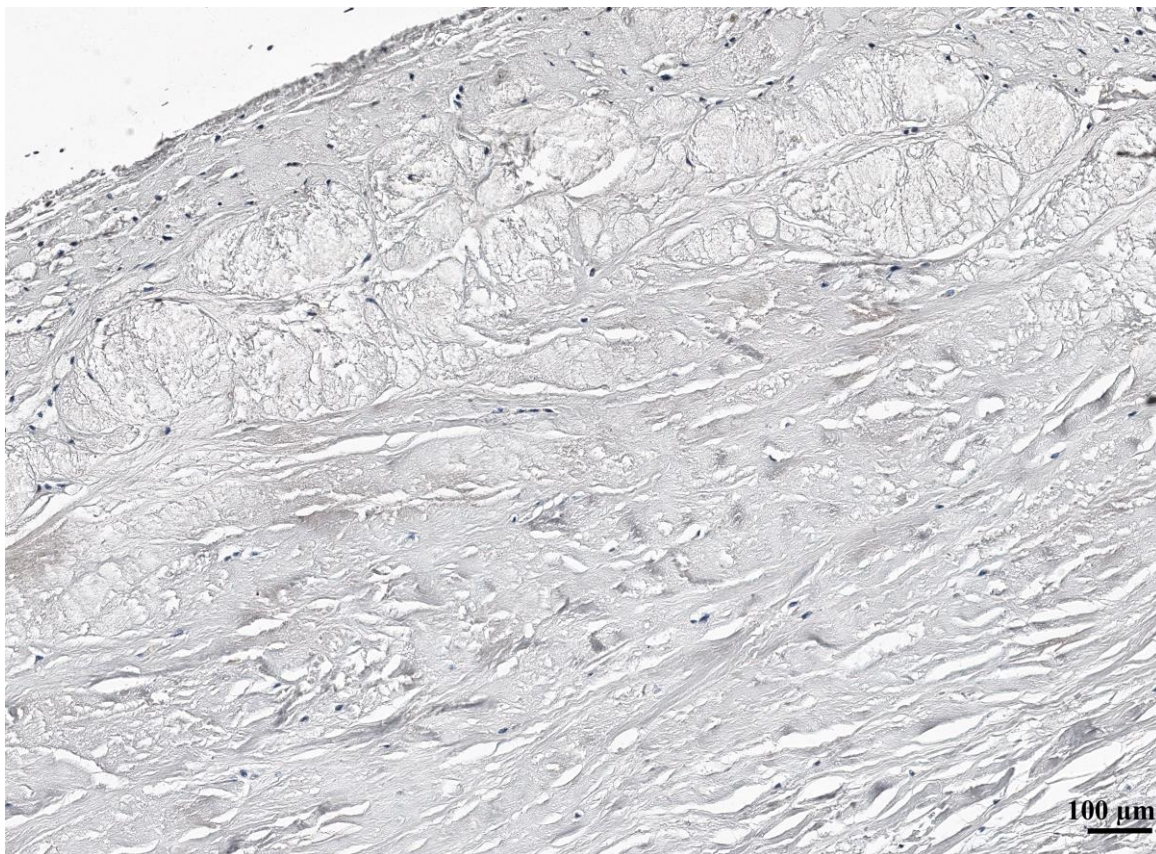
\* Retikulārās šķiedras.

**Neitrofilo leukocītu aktivizācijas marķieri dažādu IE izraisīto mikroorganismu un kontroles grupas sirds vārstuļu lapiņas audos un veģetācijā**



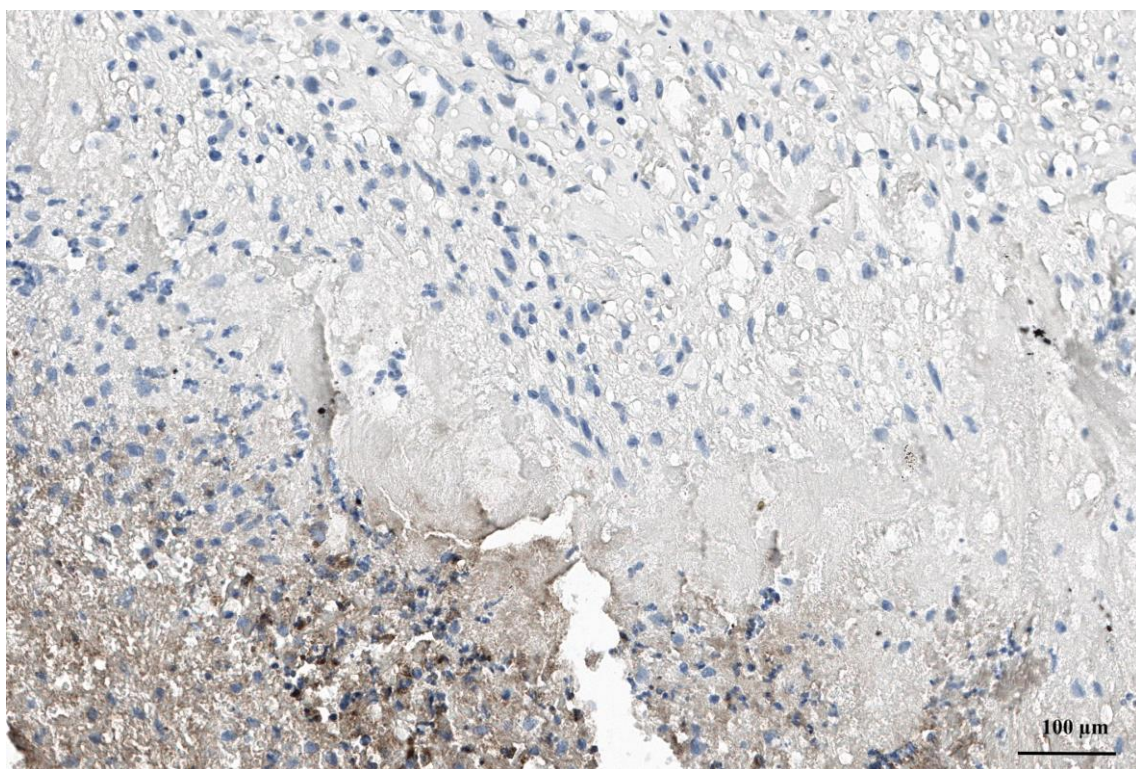
1. attēls. *Bartonella spp.* IE pacienta aortas vārstuļa lapiņas un veģetācijas fragments\*

\* anti-NE.



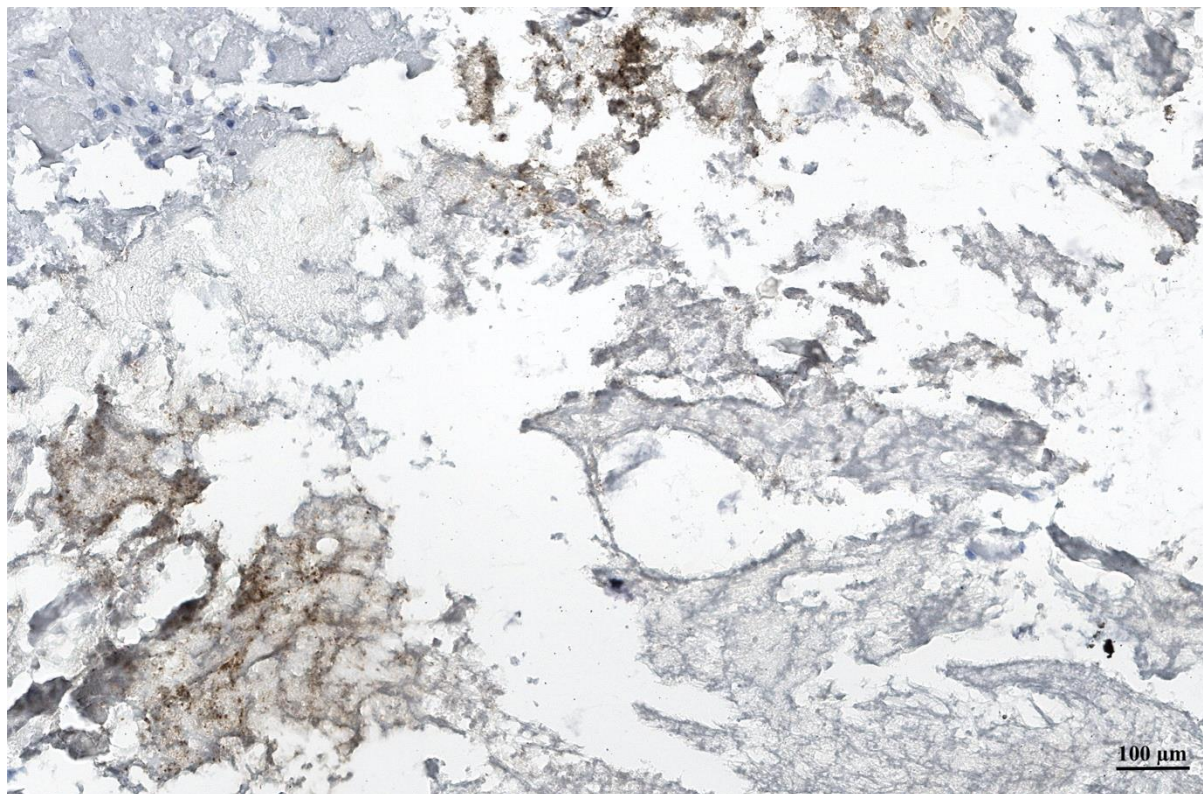
2. attēls. Kontroles grupas pacienta aortas vārstuļa lapiņas fragments\*

\* anti-NE.



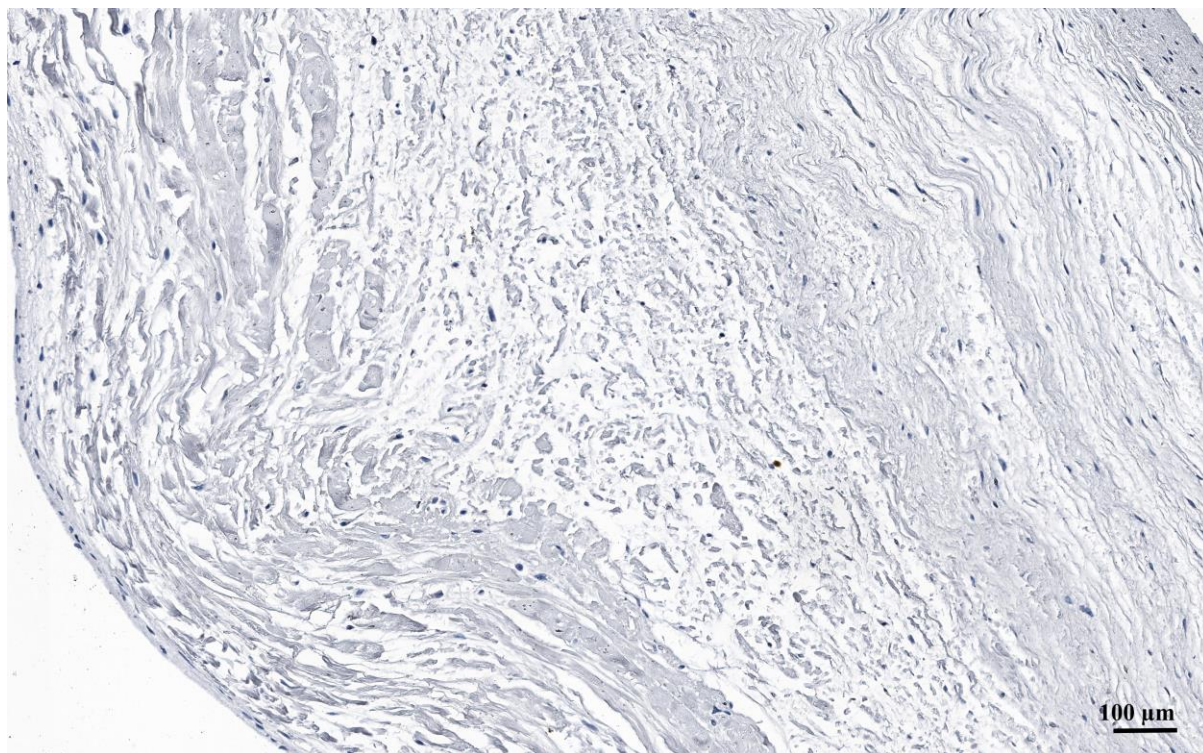
3. attēls. *Ne-Bartonella spp.* IE pacienta aortas vārstuļa lapiņas un veģetācijas fragments\*

\* anti-NE.



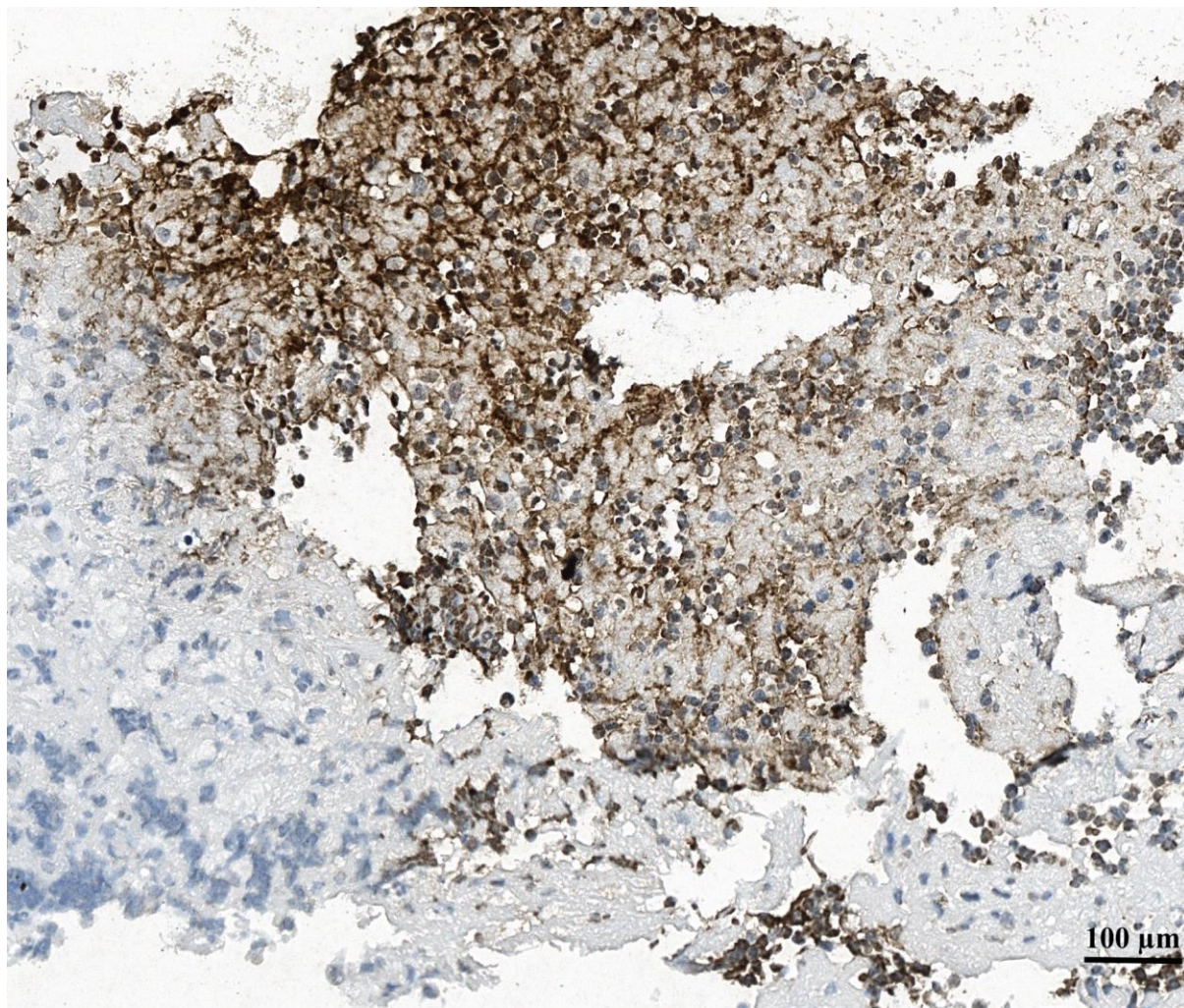
4. attēls. *Bartonella spp.* IE pacienta aortas vārstuļa lapiņas un veģetācijas fragments\*

\* anti-histons H3.



5. attēls. Kontroles grupas pacienta aortas vārstuļa lapiņas fragments\*

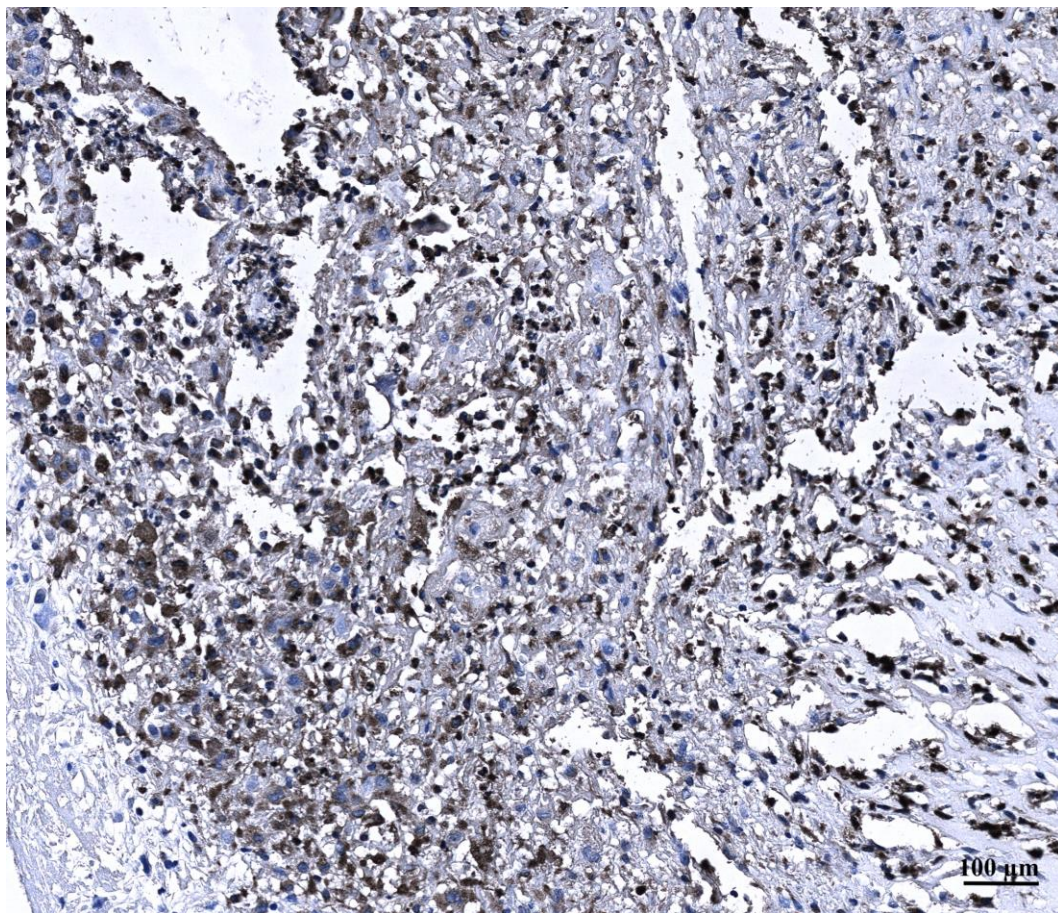
\* anti-histons H3.



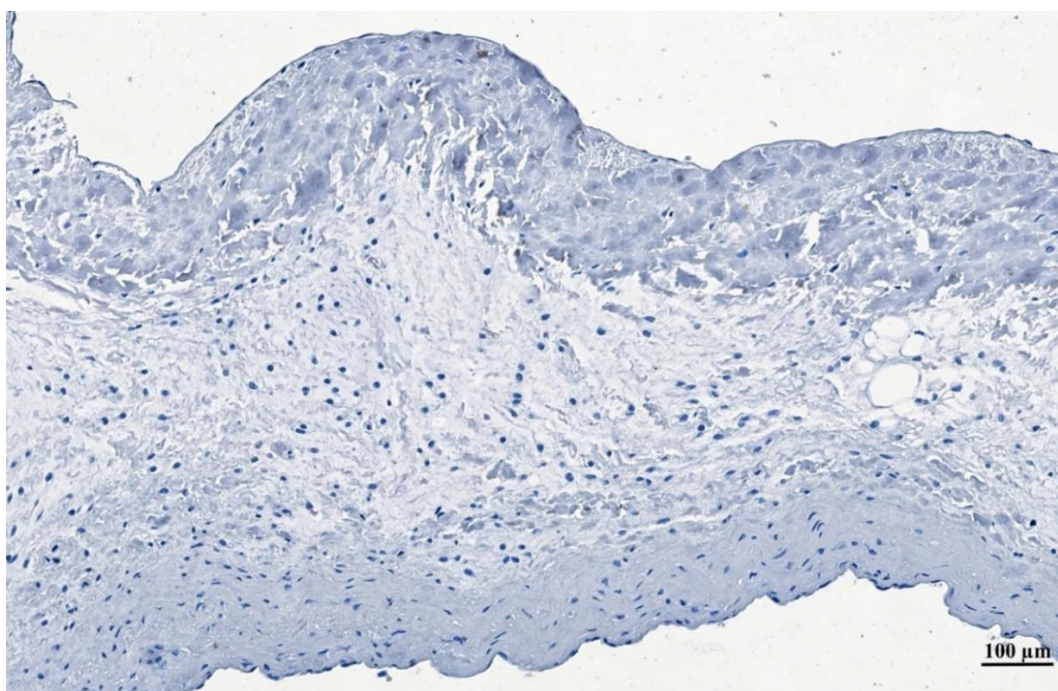
6. attēls. *Ne-Bartonella* spp. grupas pacienta aortas vārstuļa lapīnas un veģetācijas fragments\*

\* anti-histons H3.

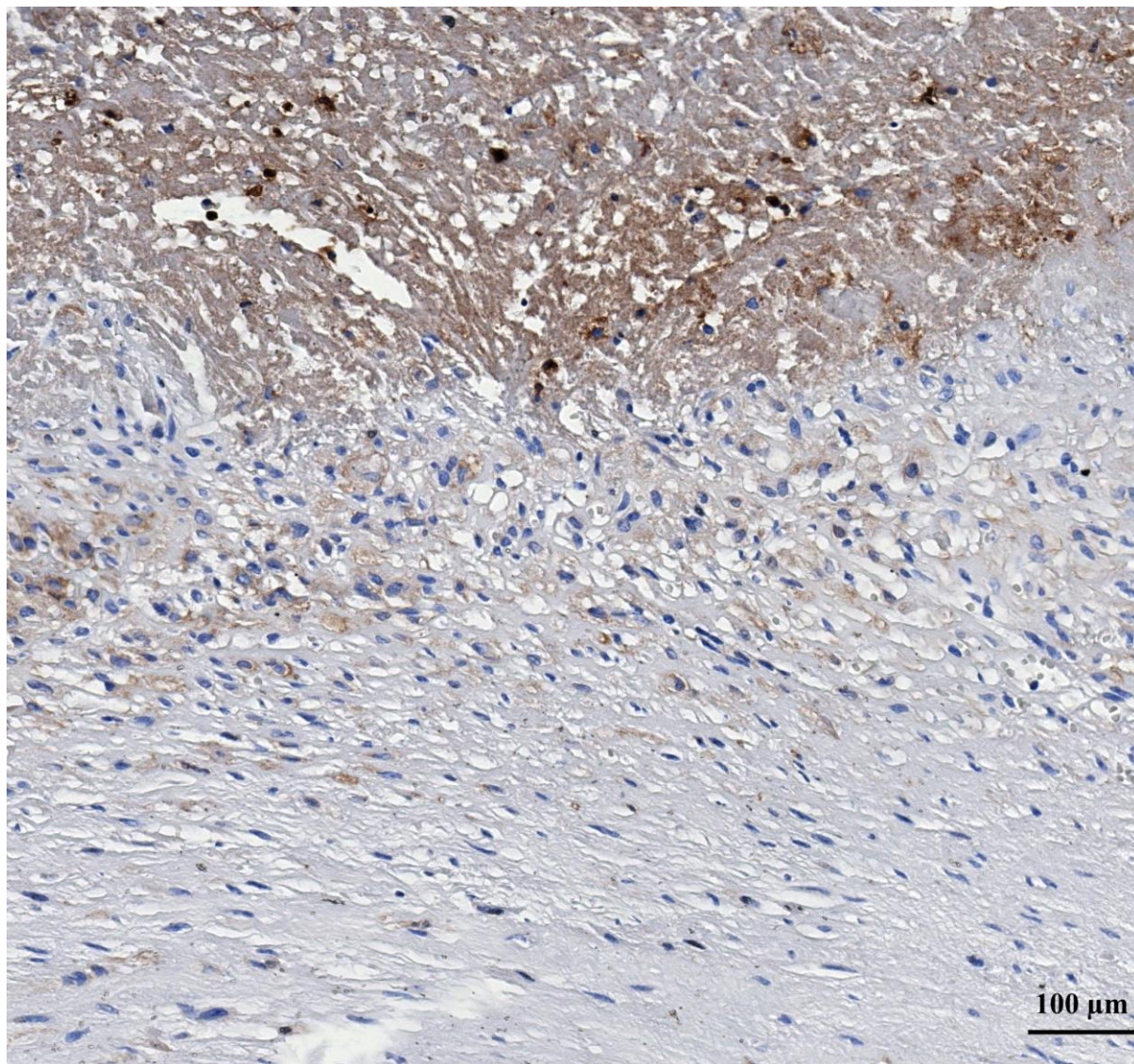




7. attēls. *Bartonella spp.* IE pacienta aortas vārstuļa lapiņas un veģetācijas fragments\*  
\* anti-MPO.

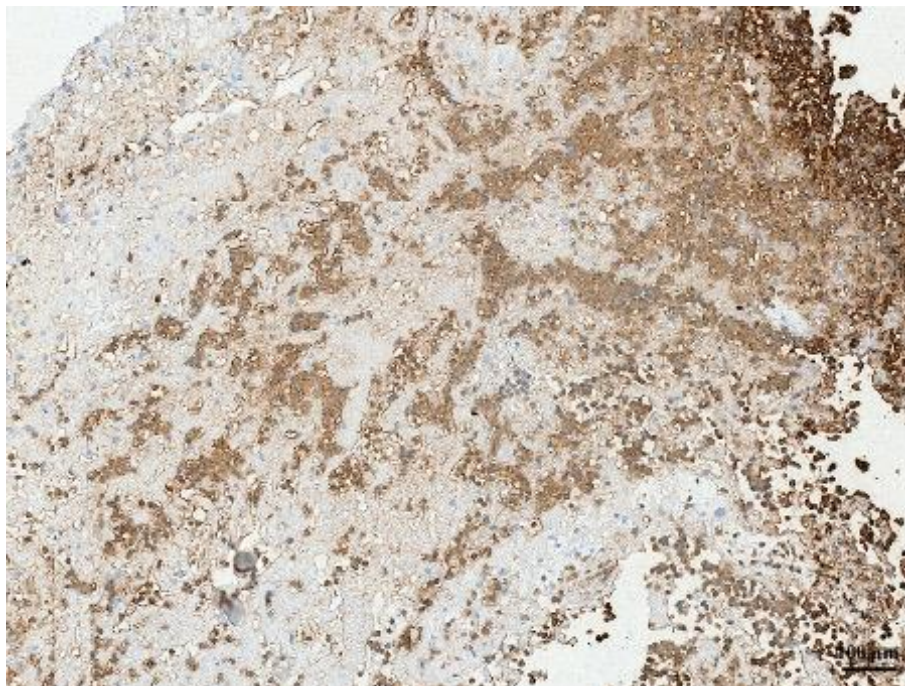


8. attēls. Kontroles grupas pacienta aortas vārstuļa lapiņas fragments\*  
\* anti-MPO.



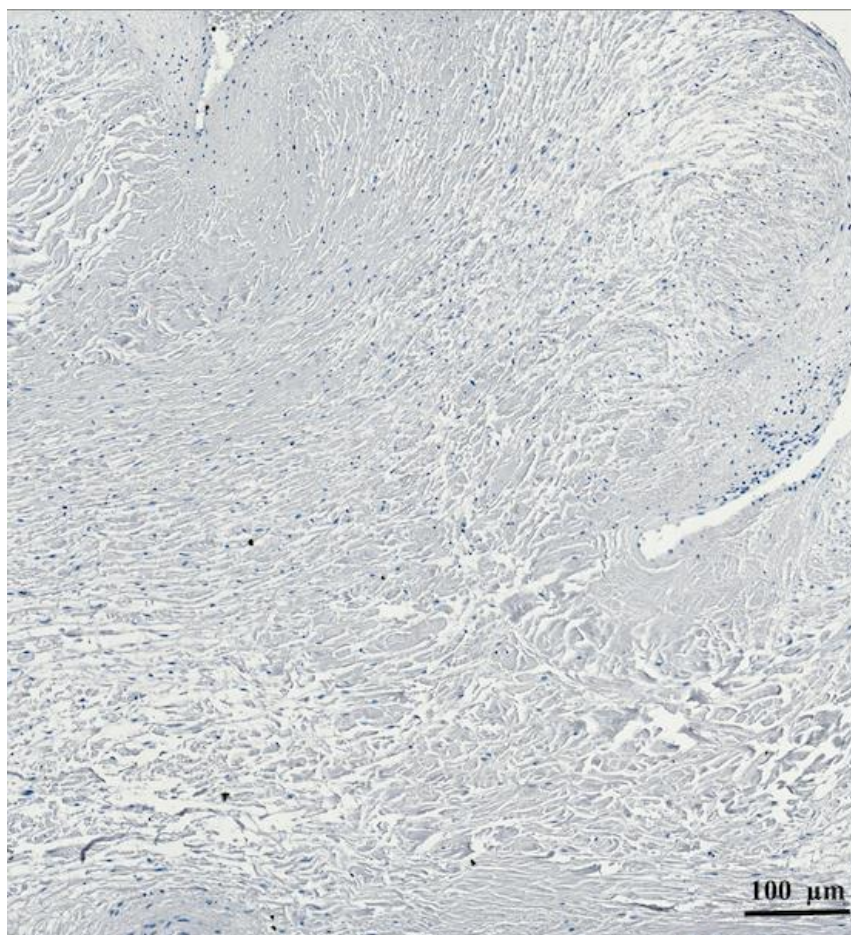
9. attēls. *Ne-Bartonella spp.* IE pacienta aortas vārstuļa lapiņas un veģetācijas fragments\*

\* anti-MPO.



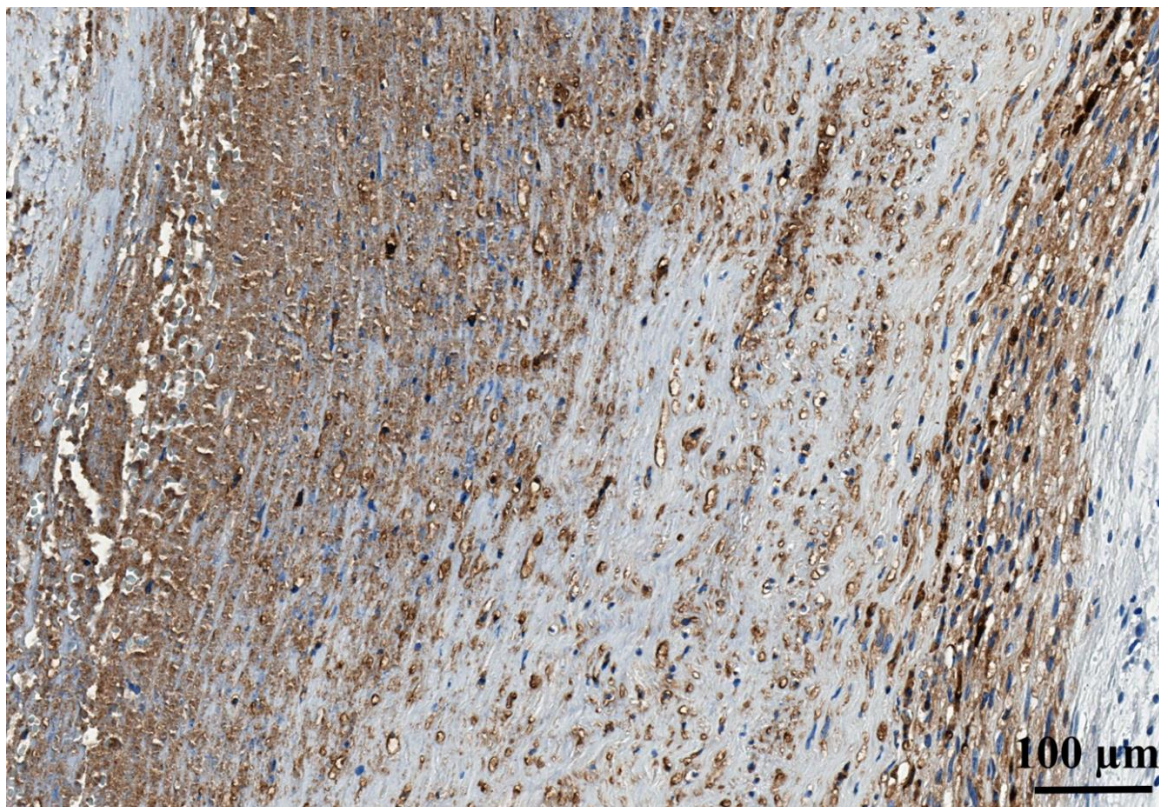
10. attēls. *Bartonella spp.* IE pacienta aortas vārstuļa lapiņas un veģetācijas fragments\*

\* anti-CP.



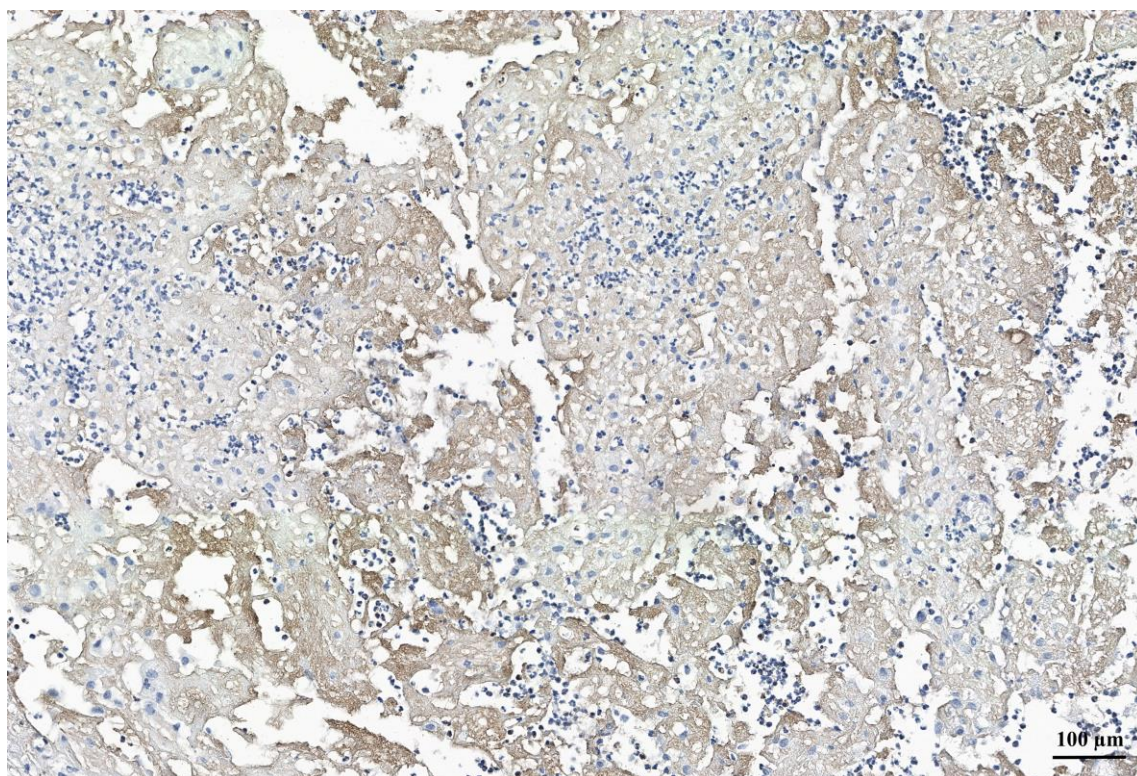
11. attēls. Kontroles grupas pacienta aortas vārstuļa lapiņas fragments\*

\* anti-CP.



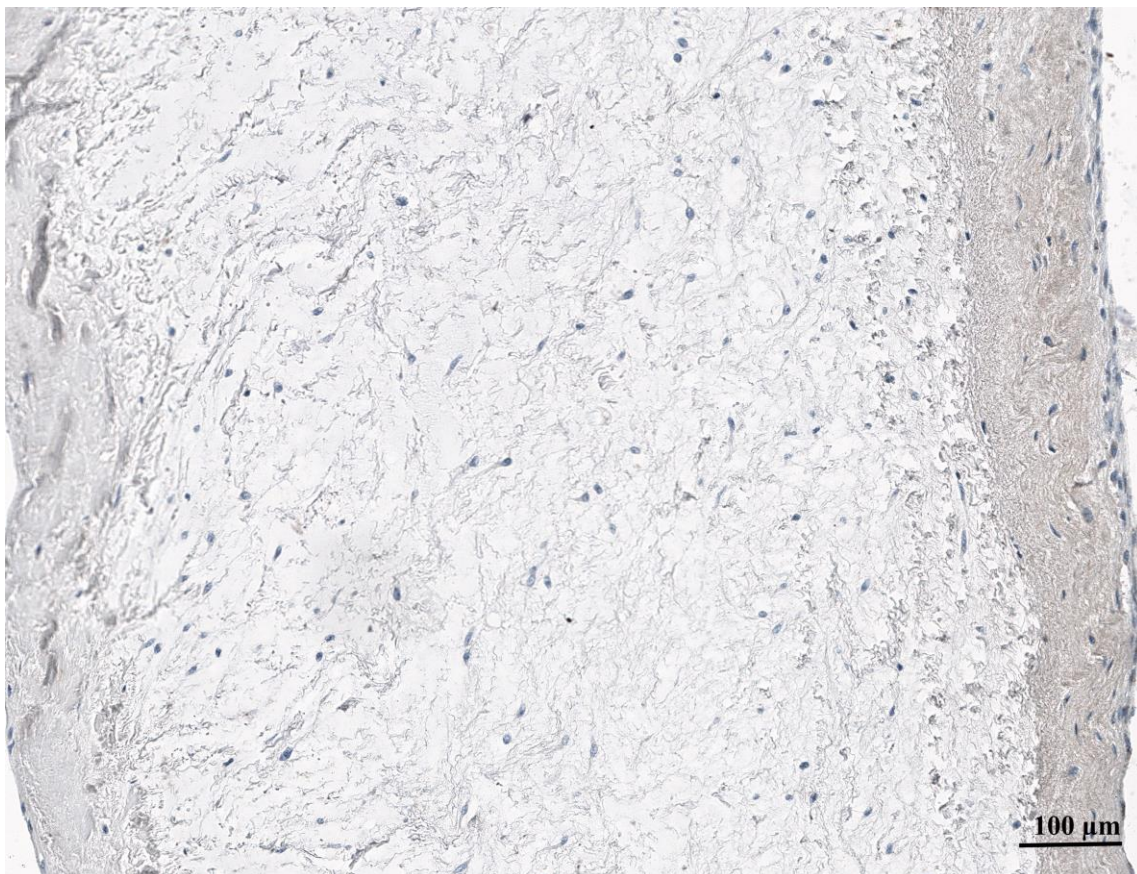
12. attēls. *Ne-Bartonella spp.* IE pacienta aortas vārstuļa lapiņas un veģetācijas fragments\*

\* anti-CP.



13. attēls. *Ne-Bartonella spp.* IE pacienta veģetācijas fragments\*

\* anti-P-selektīns.



14. attēls. **Kontroles grupas pacienta aortas vārstuļa lapiņas fragments\***

\* anti-P-selektīns.