

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

"CAROL DAVILA", BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

DOMENIUL MEDICINĂ

**PROFIL MORFOLOGIC ȘI IMUNOHISTOCHEMIC AL
POPULAȚIILOR CELULARE IMPLICATE ÎN DINAMICA
RĂSPUNSULUI IMUN ÎN MIOCARDITE**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

CONF. UNIV. DR. MIHAIL CONSTANTIN CEAUȘU

Student-doctorand:

NEAGU OANA

CUPRINS

Introducere.....	2
I. PARTEA GENERALĂ.....	3
1. Miocardita - Caracteristici generale.....	3
1.1. Tabloul clinic și confirmarea diagnosticului	3
1.2. Celulele imune în inflamația miocardică.....	3
1.3. Mecanisme fiziopatologice în miocardită	4
2. Relațiile dintre celulele imune și moleculele inflamatorii în miocardite	4
PARTEA ORIGINALĂ.....	6
3. Studiul I: Caracteristicile inflamației cardiace în formele de miocardită asociate cu sepsis ..	6
3.1 Ipoteze de lucru și obiective ale studiului.....	6
3.2. Materiale și metode	6
3.3. Rezultate.....	6
3.4. Discuții.....	7
3.5. Concluzii.....	7
4. Studiul II: Cuantificarea celulelor imune și IL-6 din inflamația cardiacă prin tehnici de imunohistochimie	8
4.1 Ipoteze de lucru și obiective ale studiului.....	8
4.2 Material și metode.....	8
4.3. Rezultate.....	9
4.3.1. Aspecte demografice ale lotului studiat	9
4.3.2. Aspecte histopatologice ale miocardului în lotul studiat	9
4.4. Discuții și Concluzii.....	11
5. Studiul III: Etiologia miocarditei și modelul inflamației miocardice în morțile subite de cauză cardiacă în populația pediatrică.....	12
5.1. Ipoteze de lucru și obiective ale studiului.....	12
5.2 Material și Metode	12
5.3 Rezultate.....	12
5.4. Discuții și concluzii	13
6. Concluzii finale și contribuții personale.....	14
Bibliografie.....	16
Lista lucrărilor publicate.....	18

Introducere

Studiul prezentat abordează complexitatea și provocările legate de diagnosticarea și tratamentul miocarditei, o afecțiune frecventă dar adesea subdiagnosticată din cauza criteriilor de diagnostic nespecifice și incomplete. Miocardita poate avea diverse cauze (virale, bacteriene, autoimune, toxice), iar diagnosticarea se face în general prin excludere, fiind susținută de evaluări clinice, paraclinice și imagistice. Tratamentul actual este limitat la ameliorarea simptomelor, fără a aborda cauza de bază a bolii.

Criteriile histologice Dallas, deși considerate un standard, sunt incomplete și nu reușesc să ofere un diagnostic precis. Studiul menționat își propune să îmbunătățească aceste criterii prin analiza detaliată a cazurilor de miocardită, utilizând inclusiv testarea imunohistochimică, pentru a corela aspectele morfopatologice și imunohistochimice ale celulelor inflamatorii cu leziunile miocitare. Scopul final este de a facilita diagnosticarea corectă a subtipurilor de miocardită și, implicit, de a contribui la îmbunătățirea tratamentului acestei afecțiuni.

I. PARTEA GENERALĂ

1. Miocardita - Caracteristici generale

1.1. Tabloul clinic și confirmarea diagnosticului

Cercetările recente au demonstrat eficiența combinării imagisticii cardiace prin rezonanță magnetică (IRM) cu biopsia endomiocardică pentru diagnosticarea miocarditei. Biopsiile prelevate din zonele cu semnal crescut al contrastului în imagini de rezonanță magnetică (RM) au permis identificarea miocarditei active acute sau cronice. În cazurile unde nu a fost posibil accesul la zonele de intensificare a contrastului, biopsiile au fost prelevate din septul ventricular drept sau din septul interventricular. Rezultatele indică o corelație puternică între rezultatele RM și prezența inflamației predominant macrofagice însoțită de leziuni ale miocitelor [1]. În cazurile unde biopsia nu a fost prelevată din zonele contrastate, miocardita activă a fost detectată doar într-un singur caz, restul pacienților prezentând semne de miocardită în remisiune sau cardiomiopatie dilatativă. Așadar, diagnosticul miocarditei este un proces complex, care implică un algoritm ce integrează informații clinice, paraclinice și imagistice, având ca scop excluderea altor patologii tratabile rapid și orientarea către etiologia posibilă și terapia adecvată. Centrele specializate în cardiologie utilizează resurse variate și costisitoare, necesită personal calificat, iar provocarea principală constă în stabilirea patogenezei și etiologiei pentru un tratament eficient [2]. Dificultatea acestui proces este accentuată de diversitatea agenților cauzatori ai inflamației miocardice și de mecanismele lor patogenice, uneori contradictorii.

1.2. Celulele imune în inflamația miocardică

Examinarea imunohistochimică a biopsiilor endomiocardice (EMB) a devenit standardul de aur pentru diagnosticul miocarditei și al cardiomiopatiei dilatative (CMD) idiopatice, conform ghidurilor din 2013 ale Societății Europene de Cardiologie. Se recomandă un prag de ≥ 14 leucocite per mm^2 , inclusiv până la 4 monocite și ≥ 7 limfocite T CD3+ per mm^2 [3]. Cu toate acestea, criteriile bazate doar pe celulele T CD3+ și macrofage subestimează inflamația, fiind relevante și alte tipuri de celule și molecule de adeziune pentru prognostic. Literatura recentă descrie descoperirile din cazurile de miocardită biopsiate, evidențiind

prezența infiltratelor limfohistiocitare și a unei populații specifice de limfocite T pozitive pentru PD-1, CD8 și granzimă-B [4].

1.3. Mecanisme fiziopatologice în miocardită

Cel mai studiat răspunsul imun în miocardită este cel indus de o infecție virală. Pentru a explica dinamica inflamației, procesul este divizat în trei stadii principale. În prima etapă, are loc replicarea virală și lezarea fibrelor musculare cardiace, influențată de tropismul virusului și susceptibilitatea gazdei. În a doua etapă, celulele inflamatorii nespecifice, precum neutrofilele, macrofagele și celulele NK, sunt atrase în țesutul afectat pentru a elimina virusul, cu un impact minim asupra țesutului cardiac [5]. A treia etapă, care variază în durată, depinde de eficiența răspunsului imun; dacă virusul nu este complet eliminat, poate rămâne latent, ducând la modificări pe termen lung și remodelare cardiacă, afectând fracția de ejeție ventriculară [6]. Mecanismele patogenezei au fost validate în special în infecțiile virale frecvente, cum ar fi cele cauzate de Coxsackie B, Parvovirus B19 și HHV6 [7], [8].

2. Relațiile dintre celulele imune și moleculele inflamatorii în miocardite

IL-6 joacă un rol crucial în sindromul de eliberare a citokinelor și în severitatea miocarditei, fiind asociată cu inflamația și leziunile cardiace, inclusiv în COVID-19. Studiile au demonstrat o corelație semnificativă între nivelurile serice de IL-6 și severitatea miocarditei, sugerând că IL-6 ar putea fi o țintă terapeutică potențială [9]. Totuși, IL-6 are un rol complex, fiind protector în inflamația acută, dar posibil nociv în bolile cronice. Cercetările viitoare sunt esențiale pentru a clarifica utilizarea sa în tratamentul miocarditei [10].

Macrofagele cardiace rezidente joacă un rol crucial în menținerea homeostaziei tisulare și dezvoltarea arterelor coronare. În urma unui eveniment ischemic acut, acestea sunt rapid înlocuite de macrofage derivate din monocite, care promovează inflamația prin secreția de citokine proinflamatoare precum IL-1, TNF și IL-6. Proteina CD163, prezentă pe macrofagele mature, este asociată cu răspunsul inflamator și vindecarea țesuturilor, iar nivelurile sale plasmatică cresc în diverse tulburări inflamatorii [11]. Aceste modificări indică un posibil rol al

CD163 și al macrofagelor în reglarea răspunsului inflamator sistemic și în sindromul de eliberare a citokinelor.

Neutrofilele sunt bine cunoscute pentru rolul lor în inflamarea și deteriorarea cardiacă după o leziune ischemică, dar rolul monocitelor și macrofagelor în acest proces rămâne dezbătut. În cazurile de miocardită letală, 46% prezintă inflamații limfo-monocitare, 8% inflamații neutrofile, iar 46% inflamații mixte limfomonocitare și neutrofile. Necroza miocitelor, rară în miocardita incidentală (3,1%), este foarte frecventă în miocardita letală (84,6%), apărând predominant în peretele anterior al ventriculului stâng. Miocardita este adesea asimptomatică și apare în 50% din cazuri, fiind caracterizată de infiltrate limfomonocitare pure sau mixte. Miocardita neutrofilică, deși rară, este potențial letală, subliniind gravitatea acestei forme timpurii de inflamație [12].

PARTEA ORIGINALĂ

3. Studiul I: Caracteristicile inflamației cardiace în formele de miocardită asociate cu sepsis

3.1 Ipoteze de lucru și obiective ale studiului

Miocardita neutrofilică este adesea o consecință a bacteriemiei severe și poate fi legată de infecții cutanate, traume sau utilizarea drogurilor intravenoase. Aceasta este rar detectată clinic înainte de deces și este frecvent asociată cu endocardita, ceea ce sugerează că este subdiagnosticată. Ventilația cu presiune pozitivă a căilor respiratorii (PAP) și un răspuns imun inadecvat în sepsis pot contribui la dezvoltarea acestei afecțiuni, care poate duce la insuficiență multiplă de organe. Studiul urmărește să caracterizeze cazurile de miocardită neutrofilică la autopsie, să evalueze prevalența miocarditei bacteriene, să analizeze factorii asociați și să exploreze relația dintre bacteriemie, sepsis și miocardită.

3.2. Materiale și metode

Acest studiu retrospectiv, desfășurat la Institutul Național de Medicină Legală, a evaluat cazurile de miocardită identificate în autopsiile medico-legale pe o perioadă de cinci ani (2014-2019). Din cele 11.660 de cazuri examinate, au fost incluse în studiu 22 de cazuri de miocardită cu inflamație acută neutrofilică și istoric de sepsis, confirmate histologic. Autopsiile au fost realizate conform protocolului european, cu prelevarea și analizarea detaliată a probelor de țesut, inclusiv a probelor cardiace din ventriculul stâng sau septul interventricular. Diagnosticul de miocardită acută a fost stabilit conform criteriilor Dallas, iar inflamația miocardică a fost cuantificată prin evaluarea microscopică a secțiunilor de țesut.

3.3. Rezultate

Pe parcursul unei perioade de cinci ani, 22 de cazuri (0,18%) au fost confirmate histologic cu miocardită neutrofilică. Majoritatea cazurilor au implicat adulți, cu o vârstă medie de 41,5 ani, și au afectat ușor mai mulți bărbați decât femei. Cazurile analizate au fost asociate

cu diverse condiții, cum ar fi traumatisme, arsuri severe, supradoze de droguri, dializă, valve cardiace protetice și infecții severe. Spitalizarea anterioară a fost comună în 16 din 22 de cazuri, iar ventilația cu presiune pozitivă a fost utilizată în aproape jumătate dintre ele. Infecțiile pulmonare și renale au fost frecvent întâlnite, iar analiza post-mortem a relevat prezența unor patogeni rezistenți la antibiotice. Evaluarea microscopică a secțiunilor cardiace a evidențiat un infiltrat inflamator mixt, dominat de neutrofile, cu macrofage și limfocite în număr mai mic. În majoritatea cazurilor, inflamația a fost ușoară, cu focare mici dispersate, dar în cinci cazuri a fost mai severă, ocupând până la 40% din secțiune. În 36% din cazuri, miocardita a fost asociată cu colonii bacteriene sau elemente fungice, iar microemboli septici au fost identificați în jumătate dintre acestea. Fibroza miocardică și hipertrofia miocitelor au fost observate în 80% din cazuri, mai accentuate în cazurile cu inflamație severă.

3.4. Discuții

Inflamația neutrofilică acută a miocardului este frecvent asociată cu bacteriemie severă, însă în studiul de față, mai puțin de 10% dintre cazuri au prezentat endocardită, sugerând că bacteriemia este cauza principală și nu diseminarea dintr-o infecție valvulară. Miocardita asociată sepsisului a fost legată predominant de leziuni severe, precum traumatismele sau arsurile, mai degrabă decât de un status imunocompromis. Majoritatea cazurilor au prezentat mici focare de inflamație răspândite în miocard, adesea asociate cu emboli septici, susținând ipoteza însămânțării bacteriene. Principalii patogeni identificați au fost *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, și *Pseudomonas aeruginosa*, iar infecțiile fungice au fost rare, dar relevante. Histologic, miocardita s-a manifestat prin focare mici de inflamație, cu colonii bacteriene sau fungice detectate în 36% din cazuri, și a fost asociată cu emboli septici și arterioscleroză.

3.5. Concluzii

Studiul sugerează că miocardita neutrofilică este cel mai probabil cauzată de însămânțarea bacteriană a miocardului. Chiar dacă culturile de sânge sunt sterile, riscul de miocardită persistă, evidențiind importanța precauțiilor în utilizarea ventilației invazive și menținerea unui mediu steril pentru pacienții critici.

4. Studiul II: Cuantificarea celulelor imune și IL-6 din inflamația cardiacă prin tehnici de imunohistochimie

4.1 Ipoteze de lucru și obiective ale studiului

Miocardita, inclusiv formele subclinice, poate fi un factor crucial în moartea subită, mai ales la indivizi fără antecedente cardiace sau care abuzează de droguri, contribuind la aritmii maligne sau insuficiență cardiacă acută. Inflamația limfocitară, specifică miocarditelor virale, deși de obicei autolimitată, poate deveni letală în prezența aritmiilor. Macrofagele și nivelurile crescute de IL-6 sunt asociate cu inflamația severă și necroza miocardică, sugerând că IL-6 ar putea fi un marker de severitate și o potențială țintă terapeutică. Studiul urmărește corelarea descoperirilor histologice cu cauzele decesului și analiza caracteristicilor histologice și imunohistochimice ale miocarditei, evaluând inflamația și necroza miocardică prin markeri specifici.

4.2 Material și metode

Acest studiu retrospectiv și observațional a analizat 77 de cazuri de autopsie de la Institutul Național de Medicină Legală "Mina Minovici" București între 2014 și 2022, focalizându-se pe miocardita confirmată histologic. Cazurile au fost selectate pe baza prezenței miocarditei și au exclus cele cu modificări autolitice avansate. Analiza histopatologică a inclus evaluarea inflamației miocardice, a necrozei și a remodelării cardiace, utilizând un sistem de scorificare pentru a clasifica severitatea inflamației și necrozei. Studiul a utilizat teste statistice, precum Mann-Whitney U și indicatorul de corelație Spearman, pentru a analiza datele colectate.

În acest studiu, 26 dintre cele 77 de cazuri de miocardită au fost evaluate imunohistochimic, folosind markerii CD3, CD163 și IL-6. CD3 a fost utilizat pentru a identifica și cuantifica limfocitele T, CD163 pentru macrofage, iar IL-6 pentru a evalua prezența și numărul celulelor pro-inflamatorii. IL-6, o citochină esențială în inflamația miocardică, a fost detectată citoplasmatic în diverse celule imune. Neutrofilele și eozinofilele, celule implicate în răspunsul imun nespecific, au fost identificate și cuantificate morfologic. Această evaluare

detaliată a permis o mai bună înțelegere a severității și caracteristicilor inflamatorii în miocardită.

4.3. Rezultate

4.3.1. Aspecte demografice ale lotului studiat

Studiul a analizat 77 de cazuri de miocardită, dintre care 65% erau bărbați și 35% femei, cu o vârstă medie de 52,62 ani. Aproximativ 25% din cazuri au fost clasificate ca miocardită borderline. Bărbații au fost ușor mai tineri decât femeile la momentul decesului. Miocardita severă a fost frecvent asociată cu arsuri grave și sepsis, iar pneumonia/bronhopneumonia a fost diagnosticată în 40% din cazuri, afectând mai ales pacienți mai tineri. Pacienții cu arsuri au prezentat o severitate semnificativ mai mare a necrozei miocitare comparativ cu cei fără arsuri, evidențiind o asociere puternică între infecțiile nosocomiale, sepsisul cu punct de plecare tegumentar/mucosal și disfuncția cardiacă majoră la momentul decesului. Consumul abuziv de droguri, frecvent întâlnit în patologia medico-legală, este asociat cu multiple infecții cronice și oportuniste, complicând starea de sănătate a pacienților. În lotul studiat, 14,29% dintre cazuri (n=11) au implicat toxicomani, aceștia fiind semnificativ mai tineri decât non-consumatorii, cu o vârstă medie de 31,09 ani.

4.3.2. Aspecte histopatologice ale miocardului în lotul studiat

Infiltratul inflamator în miocardite variază în funcție de distribuția și densitatea celulelor inflamatorii, fiind clasificat pe o scală de la 0 la 4, unde 0 reprezintă inflamație nesemnificativă, iar 4 inflamație masivă. Majoritatea cazurilor au avut inflamații de severitate minimă (40,26%). O corelație puternică a fost identificată între severitatea inflamației analizată cantitativ pe secțiune și numărul de focare inflamatorii pe secțiune, validând astfel sistemul propus în studiul efectuat cu cel cunoscut în literatură [13].

Studiul a evidențiat o corelație puternică între severitatea inflamației și severitatea necrozei în miocardită, arătând că inflamația severă este asociată cu necroză extinsă ($p \leq 0.001$). De asemenea, cazurile cu trombi sau emboli au prezentat inflamații semnificativ mai severe decât cele fără aceste complicații vasculare. Prezența coloniilor microbiene în focarele de

miocardită a fost, de asemenea, asociată cu inflamații marcate sau extinse ($p \leq 0.001$). Aceste constatări subliniază rolul important al complicațiilor vasculare și infecțioase în agravarea inflamației miocardice, evidențiind necesitatea diagnosticării și gestionării atente a acestor condiții în contextul miocarditei.

Rezultatele indică asocierea morții subite cu inflamații miocardice de severitate minimă ($p=0.003$). Mai mult decât atât, conform criteriilor Dallas, majoritatea acestor cazuri a fost încadrate la miocardită borderline (42,1%). Histologic, au fost depistate modificări de tip arterioscleroză (84,2%) și fibroză interstițială cel puțin de grad 1 (94,7%). În contrast, decesele non-subite au prezentat inflamații de toate gradele, cu o predominanță a severităților moderate și marcate.

Studiul a analizat prezența limfocitelor T în miocarditele post-mortem, observând că în 15,4% din cazuri, CD3 a fost absent, iar inflamația a fost dominată de neutrofile, adesea asociată cu pneumonie. Există o corelație puternică între scăderea nivelului de CD3 și creșterea prezenței neutrofilelor, emboliilor/trombilor, și coloniilor microbiene ($p \leq 0.001$, $p=0.013$, $p=0.021$). De asemenea, severitatea inflamației și a necrozei miocardice a fost invers proporțională cu nivelul CD3. În contextul anumitor condiții medicale, cum ar fi pneumonia, infarctul subacut, endocardita și consumul abuziv de droguri, nivelul CD3 a fost mai scăzut, indicând un răspuns imun local diferit.

Macrofagele, esențiale în răspunsul imun, au fost identificate prin markerul CD163 în cazurile de miocardită, cu valori între 10% și 70%, și o medie de 31,92%. Femeile au prezentat niveluri ușor mai mari de CD163 decât bărbații. În cazurile cu infecții pulmonare și spitalizare prelungită, macrofagele au dominat inflamația. CD163 a fost mai scăzut în prezența microemboliilor și infarctului, dar a crescut în miocarditele bacteriene sau fungice. S-a observat o corelație inversă între nivelurile CD163 și neutrofile, sugerând roluri diferite ale acestor celule în răspunsul imun ($p=0.020$). Rezultatele studiului arată că pacienții cu miocardită severă au niveluri semnificativ mai ridicate de CD163 ($p=0.040$), sugerând un rol potențial al acestui marker în patogeneza formelor severe de miocardită. În schimb, pacienții care au suferit moarte subită au avut niveluri mai scăzute de CD163, cu limfocitele T dominând inflamația ($p=0.049$).

Studiul a evaluat expresia IL6 în țesutul cardiac, observând că nivelurile acesteia cresc odată cu severitatea inflamației ($p=0.028$). În cazurile de miocardită borderline, expresia IL6 a

fost minimă, în timp ce în miocarditele severe, expresia a fost semnificativ mai mare, sugerând un potențial rol terapeutic al moleculelor anti-IL6 în gestionarea miocarditelor severe. Expresia IL6 în miocardite este predominant asociată cu macrofagele și neutrofilele. O corelație inversă moderată a fost observată între numărul de limfocite T și nivelurile de IL6, indicând că miocarditele cu o populație limfocitară dominantă au niveluri mai scăzute de IL6 ($p=0.005$). Aceste rezultate sugerează că tratamentele care blochează IL6, precum tocilizumab, ar putea fi mai puțin eficiente în cazurile de miocardită borderline sau ușoară, unde limfocitele sunt celulele inflamatorii predominante.

4.4. Discuții și Concluzii

Studiul a analizat cazuri de miocardită observată microscopic, diagnosticată predominant la bărbați aflați în a cincea sau a șasea decadă de viață, adesea cu un răspuns imun alterat din cauza afecțiunilor cronice sau spitalizării prelungite. Un subgrup tânăr, format din consumatori de droguri, a prezentat frecvent infecții pulmonare severe și miocardită neutrofilică. Moartea subită, observată în acest lot, a fost asociată cu inflamații miocardice ușoare, mai ales limfocitare. Inflamația a fost evaluată folosind metode cantitative, iar tehnicile imunohistochimice au ajutat la identificarea celulelor inflamatorii dominante, cum ar fi limfocitele T și macrofagele. Miocarditele cu infiltrate bogate în neutrofile și necroză severă au fost frecvent asociate cu infecții bacteriene sau fungice.

Studiul retrospectiv evidențiază că markerul CD3, specific limfocitelor T, nu este întotdeauna esențial în diagnosticul post-mortem al miocarditei, deoarece multe cazuri reflectă complicații legate de sepsis, endocardită sau un status imunitar compromis. În schimb, markerul CD163, specific macrofagelor, are o importanță diagnostică și prognostică semnificativă, cu niveluri mai ridicate corelate cu miocardita severă. În plus, citokina IL-6 a fost identificată ca un indicator al severității inflamației și necrozei miocardice, sugerând potențialul său ca marker pentru evaluarea severității bolii și ghidarea intervențiilor terapeutice.

5. Studiul III: Etiologia miocarditei și modelul inflamației miocardice în morțile subite de cauză cardiacă în populația pediatrică

5.1. Ipoteze de lucru și obiective ale studiului

Studiul a vizat identificarea etiologiei, în special a celei virale, care este frecventă în rândul populației tinere. Miocardita virală se manifestă histologic prin infiltrate inflamatorii subtile, predominant de limfocite T, în special CD4+. Obiectivele au inclus examinarea detaliată a inflamației și leziunilor miocardice, corelarea acestora cu datele clinice și identificarea agentului etiologic prin analize histopatologice, imunohistochimice și microbiologice ale țesutului cardiac.

5.2 Material și Metode

Au fost investigate 813 necropsii pediatriche pe parcursul a 17 ani, confirmându-se 23 de cazuri de miocardită acută ca principală cauză a decesului. Examinările au inclus analize histologice detaliate, imunohistochimie pentru fenotiparea infiltratului inflamator și real-time PCR pentru detectarea genotipurilor virale comune. Diagnosticul de miocardită a fost stabilit conform ghidurilor Societății Europene de Cardiologie. Datele clinice și patologice au fost centralizate pentru a identifica legături între aspectele histologice, genetice și cauzele infecțioase, evidențiind utilitatea tehnicii PCR în diagnosticarea infecțiilor virale latente asociate cu boli cardiace.

5.3 Rezultate

Majoritatea copiilor care au decedat din cauza miocarditei aveau sub 2 ani, cu o vârstă mediană de 1,77 ani, și un raport masculin de 1,4:1. Aproape jumătate dintre decese au avut loc în sezonul de toamnă și iarnă, dar fără o legătură semnificativă cu sezonul virozelor. Miocarditele virale au fost predominante, reprezentând 70% din cazuri, cu Enterovirusurile și Parvovirusul B19 fiind cele mai frecvent identificate. Alte cauze identificate au inclus *Streptococcus pyogenes* și miocardită de hipersensibilitate, în timp ce în patru cazuri etiologia

a rămas necunoscută. Simptomele prodromale tipice au inclus vărsături, tulburări respiratorii și letargie, apărând în medie cu 3 zile înainte de deces.

Imunohistochimia aplicată în șase cazuri de miocardită a utilizat markeri specifici pentru a identifica tipul și extinderea inflamației. Markerii CD45, CD3, CD4 și CD8 au evidențiat predominanța limfocitelor T helper (CD4+) în miocarditele virale, cu limfocite T citotoxice (CD8+) detectate doar izolat. În cazurile de miocardită idiopatică, analiza extinsă a limfocitelor B (CD20 și CD79) nu a relevat rezultate semnificative. În formele difuze de miocardită, macrofagele CD68 pozitive au fost celulele predominante, confirmând prezența unui infiltrat limfoid și histiocitar în toate cazurile.

5.4. Discuții și concluzii

Analiza histologică a cazurilor de miocardită asociate morții subite în rândul copiilor oferă informații esențiale despre etiologia și prevalența acestei patologii. Studiul retrospectiv, utilizând tehnici PCR și imunohistochimie, a evidențiat că infecția cu Parvovirus B19 este asociată frecvent cu un infiltrat inflamator difuz și miocardită fulminantă. În cazul Enterovirusurilor, decesul a survenit în perioada neonatală, în primele zile de viață (vârsta mediană de 8 zile). Macrofagele predomină în cazurile în care materialul genetic viral nu a fost detectat, subliniind importanța fenotipării celulare. Diagnosticul de miocardită virală necesită integrarea datelor clinice, patologice și microbiologice, iar infecțiile virale rămân principala cauză a inflamației miocardice în rândul copiilor. Miocardita acută reprezintă aproximativ 3% din totalul de morți subite non-violente în populația pediatrică.

6. Concluzii finale și contribuții personale

În primul studiu este abordată miocardita neutrofilică, insuficient documentat anterior, prin evidențierea și cuantificarea inflamației și leziunilor miocardice. Rezultatele identifică legătura dintre inflamația cardiacă dominată de neutrofile și starea septică, evidențiind că miocardita neutrofilică este probabil cauzată de înșămânțarea bacteriană a miocardului, adesea asociată cu traumatisme sau arsuri. Am subliniat, de asemenea, importanța integrării tabloului clinic în evaluarea histologică, ceea ce îmbunătățește acuratețea diagnosticului și permite identificarea unor mecanisme fiziopatologice și asocieri cu impact clinic. Aceste contribuții pot influența abordările viitoare în diagnostic și tratament, în special în cazurile de sepsis și infecții plurimicrobiene.

Al doilea studiu a reușit să atingă obiectivele de cercetare prin identificarea unor corelații semnificative între inflamația cardiacă și diverse condiții clinice, precum arterioscleroza, consumul de droguri și infecțiile. Studiul a demonstrat avantajele utilizării imunohistochimiei și analizelor cantitative a inflamației și necrozei miocardice pentru a înțelege mai bine patogeniza și dinamica celulelor inflamatorii în miocardită. Contribuțiile personale includ propunerea unei subclasificări a miocarditelor active, dezvoltarea de sisteme de scorificare pentru cuantificarea severității inflamației și necrozei, și integrarea tehnicilor de imunohistochimie pentru identificarea populațiilor celulare inflamatorii. Aceste abordări au permis identificarea unor corelații relevante care influențează evoluția miocarditei, oferind astfel o bază pentru strategii de diagnostic și tratament personalizate și adaptabile la cazurile critice.

Studiul asupra cazurilor de moarte subită pediatrică asociate miocarditei a evidențiat că etiologia inflamației cardiace este predominant virală, cu Enterovirusurile și Parvovirusul B19 fiind principalele cauze. Prin utilizarea tehnicilor avansate de biologie moleculară, cum ar fi PCR și RT-PCR, studiul a reușit să identifice modele de inflamație și să coreleze datele morfologice și epidemiologice. Imunohistochimia a fost esențială pentru definirea precisă a tipurilor de celule implicate în inflamație, subliniind rolul limfocitelor T și al macrofagelor în răspunsul inflamator din infecția miocardică virală. Contribuțiile personale ale cercetării includ documentarea detaliată a cazurilor de miocardită în moartea subită pediatrică, dezvoltarea unor

modele de inflamație, realizarea unei analize semicantitative, integrarea tehnicilor de imunohistochimie și biologie moleculară pentru o documentare aprofundată a patogenezei miocarditei.

Bibliografie

- [1] C. Tschöpe *et al.*, “Myocarditis and inflammatory cardiomyopathy: current evidence and future directions,” Mar. 01, 2021, *Nature Research*. doi: 10.1038/s41569-020-00435-x.
- [2] E. Ammirati *et al.*, “Management of Acute Myocarditis and Chronic Inflammatory Cardiomyopathy: An Expert Consensus Document,” Nov. 01, 2020, *Lippincott Williams and Wilkins*. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.120.007405.
- [3] A. L. P. Caforio *et al.*, “Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: A position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases,” *Eur Heart J*, vol. 34, no. 33, pp. 2636–2648, Sep. 2013, doi: 10.1093/EURHEARTJ/EHT210.
- [4] I. Sobol, C. L. Chen, S. S. Mahmood, and A. C. Borczuk, “Histopathologic Characterization of Myocarditis Associated With Immune Checkpoint Inhibitor Therapy,” *Arch Pathol Lab Med*, vol. 144, no. 11, pp. 1392–1396, Nov. 2020, doi: 10.5858/ARPA.2019-0447-OA.
- [5] K. Favere *et al.*, “Toll-Like Receptors: Are They Taking a Toll on the Heart in Viral Myocarditis?,” *Viruses 2021, Vol. 13, Page 1003*, vol. 13, no. 6, p. 1003, May 2021, doi: 10.3390/V13061003.
- [6] L. M. Buja *et al.*, “Clinicopathological manifestations of myocarditis in a heart failure population,” *Cardiovascular Pathology*, vol. 45, Mar. 2020, doi: 10.1016/J.CARPATH.2019.107190.
- [7] H. P. Schultheiss, C. Baumeier, G. Aleshcheva, C. T. Bock, and F. Escher, “Viral Myocarditis—From Pathophysiology to Treatment,” *Journal of Clinical Medicine 2021, Vol. 10, Page 5240*, vol. 10, no. 22, p. 5240, Nov. 2021, doi: 10.3390/JCM10225240.
- [8] L. Andréoletti, N. Lévêque, C. Boulagnon, C. Brasselet, and P. Fornes, “Viral causes of human myocarditis,” *Arch Cardiovasc Dis*, vol. 102, no. 6–7, pp. 559–568, Jun. 2009, doi: 10.1016/j.acvd.2009.04.010.
- [9] P. Luo, Y. Liu, L. Qiu, X. Liu, D. Liu, and J. Li, “Tocilizumab treatment in COVID-19: A single center experience,” *J Med Virol*, vol. 92, no. 7, pp. 814–818, Jul. 2020, doi: 10.1002/jmv.25801.
- [10] G. Peretto *et al.*, “Myocardial Inflammation as a Manifestation of Genetic Cardiomyopathies: From Bedside to the Bench,” *Biomolecules 2023, Vol. 13, Page 646*, vol. 13, no. 4, p. 646, Apr. 2023, doi: 10.3390/BIOM13040646.

- [11] Y. Zhuang, J. Wang, H. Li, Y. Chen, C. Chen, and D. W. Wang, “Plasma Siglec-5 and CD163 as Novel Biomarkers for Fulminant Myocarditis.,” *Biomedicines*, vol. 10, no. 11, Nov. 2022, doi: 10.3390/biomedicines10112941.
- [12] M. B. Casali, A. Lazzaro, G. Gentile, A. Blandino, E. Ronchi, and R. Zoja, “Forensic grading of myocarditis: an experimental contribution to the distinction between lethal myocarditis and incidental myocarditis.,” *Forensic Sci Int*, vol. 223, no. 1–3, pp. 78–86, Nov. 2012, doi: 10.1016/j.forsciint.2012.08.004.
- [13] I. D. Kitulwatte, P. J. H. Kim, and M. S. Pollanen, “Sudden death related myocarditis: a study of 56 cases,” *Forensic Sci Med Pathol*, vol. 6, no. 1, pp. 13–19, Mar. 2010, doi: 10.1007/s12024-009-9125-5.

Lista lucrărilor publicate

Neagu, O., Luca, L., Bosa, M., Tița, A., & Ceaușu, M. C. (2024). Neutrophilic Myocarditis: Insights from a Forensic Centre's Retrospective Study. *Diagnostics*, *14*(14), 1527.

<https://doi.org/10.3390/diagnostics14141527> (Capitolul 3: pag 32-41)

Neagu, O., Chirică, V., Luca, L., Bosa, M., Tița, A., & Ceaușu, M. C. (2024). Novel Immunohistochemical and Morphological Approaches in a Retrospective Study of Post-Mortem Myocarditis. *Medicina*, *60*(8), 1312. <https://doi.org/10.3390/medicina60081312> (Capitolul 4: pag 91-114)

Neagu, O., Rodríguez, A. F., Callon, D., Andréoletti, L., & Cohen, M. C. (2021). Myocarditis Presenting as Sudden Death in Infants and Children: A Single Centre Analysis by ESGFOR Study Group. *Pediatric and Developmental Pathology*, *24*(4), 327–336.

<https://doi.org/10.1177/10935266211007262> (Capitolul 5: pag 114-124)