
TEZĂ DE DOCTORAT - REZUMAT

Aportul diagnostic și prognostic al imagisticii modulare în miocardita acută

Doctorand **Alexandra Popa**

Conducător de doctorat Conf. dr. **Lucia Agoșton-Coldea**



CUPRINS

INTRODUCERE	15
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	17
1. Miocardita acută - date generale	19
1.1. Definiție și clasificare	19
1.2. Fiziopatologia în MA	20
2. Diagnosticul paraclinic în miocardita acută	25
2.1. Biopsia endomiocardică (BEM)	25
2.2. Biomarkeri plasmatici	27
2.2.1. Biomarkeri de necroză miocardică- troponine	27
2.2.2. Biomarkeri de stres cardiac și remodelare- peptide natriuretice	27
2.2.3. Biomarkeri de fibroză și remodelare	28
2.2.3.1. Matrice extracelulară și propeptide de colagen	28
2.2.3.2. Galectin -3	28
2.2.3.3. ST2	29
2.2.4. Osteopontina	29
2.2.5. Biomarkeri moleculari - micro ARN	30
2.3. Imagistica prin rezonanță magnetică cardiacă	30
3. Tratamentul în miocardita acută	33
3.1. Tratament simptomatic	33
3.2. Tratament etiologic	34
3.3. Tratament patogenetic	34
3.4. Terapii noi	35
4. Modele experimentale în miocardita acută	37
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	39
1. Ipoteza de lucru. Obiective	41
2. Studiul 1. Perspective moleculare asupra miocarditei acute la pacienții pediatrici	43
2.1. Introducere	43
2.2. Ipoteza de lucru	43
2.3. Material și metode	44
2.4. Rezultate	45
2.4.1. Patogeneza în MA. Celulele sistemului imunitar și inflamazomul. Mecanisme moleculare	45
2.4.2. Patogeneza în MA. Teoria autoimună și autoinflamatorie	48
2.4.3. Explorarea paraclinică în MA	49
2.4.3.1. Imunologie. Viral straining	49
2.4.3.2. Biomarkeri circulanți	50
2.4.3.3. Micro- ARN	52
2.4.4. Noi perspective terapeutice	54
2.5. Discuții	56
2.6. Concluzii	56
3. Studiul 2. Rolul imagisticii prin rezonanță magnetică cardiacă în stratificarea riscului la pacienții cu miocardită acută	57
3.1. Introducere	57
3.2. Ipoteza de lucru	58
3.3. Material și metode	58
3.3.1. Pacienți	58

3.3.2. IRMc	59
3.3.3. Monitorizare clinică	61
3.3.4. Analiza statistică	61
3.4. Rezultate	62
3.4.1. Caracteristici generale	62
3.4.2. Caracteristicile pacienților evaluați prin IRMc	64
3.4.3. Capacitatea biomarkerilor de a stabili diagnosticul de fibroză miocardică în MA	65
3.4.4. Determinarea factorilor predictivi independenți ai ECVm	66
3.5. Discuții	68
3.6. Concluzii	70
4. Studiul 3. Aspecte imagistice ecocardiografice în miocardita autoimună indusă experimental	71
4.1. Introducere	71
4.2. Ipoteza de lucru	72
4.3. Material și metode	72
4.3.2. Design-ul studiului	72
4.3.3. Electrocardiografia. Ecocardiografia	74
4.3.4. Examinarea histopatologică	74
4.3.5. Metode statistice	74
4.4. Rezultate	75
4.4.1. Rezultate ECG	75
4.4.2. Rezultate ecocardiografice	76
4.5. Discuții	78
4.6. Concluzie	80
5. Studiul 4. Efectele Mangiferinei în miocardita autoimună indusă experimental	81
5.1. Introducere	81
5.2. Ipoteza de lucru	83
5.3. Material și metode	83
5.3.1. Animale	83
5.3.2. Măsurători biochimice	83
5.3.3. Examinare histopatologică	83
5.3.4. Metode statistice	84
5.4. Rezultate	84
5.4.1. Rezultate biochimice	84
5.4.2. Rezultate histopatologice	88
5.5. Discuții	90
5.6. Concluzii	91
6. Concluzii generale	93
7. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	95
REFERINȚE	97

CUVINTE CHEIE

miocardită acută, inflamație miocardică, biomarkeri de fibroză cardiacă, IRM cardiacă, remodelare ventriculară, evenimente cardiovasculare majore, model experimental, stres nitro-oxidativ, flavonoizi, Mangiferină.

INTRODUCERE

Miocardita acută (MA) este o inflamație recentă a miocardului, cu o durată de sub o lună, caracterizată prin dificultăți în procesul de diagnostic din cauza absenței unor simptome specifice și a evoluției imprevizibile. Incidența reală a acestei afecțiuni este probabil subestimată, deoarece numeroase cazuri rămân nediagnosticate și, implicit, netratate. MA reprezintă o cauză majoră de remodelare cardiacă progresivă și de evenimente cardiovasculare majore, ce duce la o povară a sistemului de sănătate, datorită spitalizărilor repetate și a mortalității crescute chiar și în contextul progreselor terapeutice actuale. Astfel un factor cheie în evoluția bolii este dezvoltarea fibrozei miocardice care influențează negativ prognosticul acestor pacienți.

Diagnosticul clinic al MA este complicat de variabilitatea simptomelor, care pot include dureri toracice, dispnee, oboseală, palpitații, aritmii și chiar moarte subită la copii și adolescenți. Ecocardiografia, deși este o metodă neinvazivă, are limitări în diagnosticarea precisă a MA, având o sensibilitate și specificitate reduse. Biopsia endomiocardică (BEM), considerată standardul de aur, are o sensibilitate limitată și riscuri post-procedurale, ceea ce limitează utilizarea ei de rutină. Imagistica prin rezonanță magnetică cardiacă (IRMc) este un instrument valoros pentru diagnosticarea MA, oferind o evaluare neinvazivă a inflamației și fibrozei miocardice. Reevaluarea prin IRMc la intervale de 3 și 6 luni este importantă pentru monitorizarea progresiei bolii, oferind informații despre normalizarea funcției cardiace sau progresia către cardiomiopatie dilatativă, aritmie ventriculară malignă, insuficiență cardiacă și moarte subită. În plus, biomarkerii circulanți ai fibrozei, precum Galectin-3, propeptidele de colagen - P1CP și P1IINP, oferă informații suplimentare despre starea pro-fibrotică a miocardului. Acești biomarkeri pot ajuta la evaluarea riscului de moarte subită cardiacă, oferind o imagine mai clară asupra severității bolii și a evoluției acesteia.

Înțelegerea patogenezei miocarditei este esențială pentru adaptarea tratamentului, întrucât etiologiile pot varia de la infecții virale la reacții autoimune, fiecare determinând răspunsuri inflamatorii și imune distincte.

Pe lângă tratamentele standard, cercetările actuale explorează terapii potențiale care vizează căile inflamatorii și fibrotice implicate în miocardită. Flavonoizii, în special Mangiferina, un compus extras din *Mangifera indica*, au arătat efecte cardioprotectoare semnificative. În prezent, studiile experimentale sunt în desfășurare pentru a explora potențialul acestor compuși în tratamentul miocarditei, deschizând noi perspective pentru pacienți.

Teza este organizată în două secțiuni, conform structurii standard: partea generală constă într-o revizuire sistematică a literaturii, abordând aspectele clinice, imagistice și histologice la pacienții cu MA, cu un accent special pe mecanismele moleculare responsabile de apariția edemului și fibrozei miocardice. De asemenea, include o descriere a metodelor imagistice utilizate pentru diagnosticarea afectării cardiace și a opțiunilor terapeutice actuale, punând în evidență cele mai recente tendințe în tratament. Partea de contribuție personală prezintă obiectivele și etapele cercetării într-un capitol introductiv, urmată de expunerea detaliată a studiilor originale realizate în cadrul proiectului.

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Primul capitol oferă o sinteză comprehensivă a informațiilor generale despre MA, incluzând clasificarea și mecanismele fiziopatologice care stau la baza acestei afecțiuni. Este analizată etiologia diversă a bolii, de la cauze infecțioase la cauze autoimune, și sunt explicate procesele complexe de inflamație și fibroză miocardică, cu un accent special pe modul în care aceste mecanisme influențează progresia bolii.

Al doilea capitol se concentrează pe modalitățile de diagnosticare în MA, abordând în detaliu metodele actuale disponibile. După o trecere în revistă a metodei standard – BEM și a biomarkerilor plasmatici care reflectă necroza miocardică și stresul cardiac, capitolul aprofundează descrierea biomarkerilor de fibroză și remodelare cardiacă, inclusiv propeptidele de procologen și Galectin-3. De asemenea, se subliniază rolul emergent al micro-ARN-urilor, acestea fiind din ce în ce mai relevante pentru înțelegerea proceselor patologice din MA. Capitolul oferă, totodată, o analiză detaliată a imagisticii prin rezonanță magnetică cardiacă, evidențiind valoarea sa diagnostică și prognostică în evaluarea pacienților cu MA.

Al treilea capitol explorează strategiile terapeutice actuale în MA. Sunt prezentate atât tratamentele standard utilizate în prezent, cât și tendințele emergente în cercetarea medicală, care vizează noi terapii adaptate mecanismelor fiziopatologice ale bolii, precum intervențiile farmacologice țintite și terapiile imunomodulatoare.

Capitolul patru descrie cele mai frecvente metode experimentale utilizate în cercetarea MA. Sunt prezentate modele experimentale *in vivo*, care permit o înțelegere mai profundă a mecanismelor bolii și care servesc drept platforme pentru testarea unor terapii țintite.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Partea a doua a tezei de doctorat este organizată în patru capitole distincte, începând cu analiza literaturii de specialitate, urmată de un studiu clinic, și continuând cu două studii experimentale. Aceste studii evidențiază aplicarea directă a cunoștințelor teoretice în practica medicală, contribuind semnificativ la progresul științific prin descoperiri inovatoare.

Studiul 1. Perspective moleculare asupra miocarditei acute la pacienții pediatrici

Primul studiu analizează în detaliu patogeneza MA și metodele biochimice de diagnosticare, concentrându-se pe populația pediatrică. O căutare sistematică în PubMed și Google Scholar, limitată la articolele publicate între anii 2013 și 2023, a evidențiat faptul că MA în populația pediatrică, are o etiologie predominant viral, caracterizat de un proces inflamator desfășurat în trei faze: acută, subacută și cronică. BEM este standardul de aur pentru diagnosticarea miocarditei, însă în cazul copiilor, diagnosticul este adesea clinic din cauza riscurilor procedurale. Criteriile Dallas oferă un cadru histopatologic, iar tehnicile de imunohistochimie și reacțiile de polimerizare în lanț (PCR) îmbunătățesc acuratețea diagnosticului. Diagnosticul poate fi complicat de accesibilitatea zonelor afectate, motiv pentru care se investighează alternative precum analizele PCR din probe de aspirat traheal. Biomarkerii ca propeptidele de procologen, oferă informații despre severitatea leziunilor cardiace și riscul de insuficiență cardiacă, iar Galectin-3 facilitează tranziția de la inflamația acută la cea cronică, având rol profibrotic. Alături de aceștia, micro-ARN-urile își dovedesc în studiile actuale, un potențial semnificativ pentru diagnosticul și prognosticul MA. Tratatamentul se concentrează pe terapia simptomatică, iar opțiuni noi, precum antagoniștii IL-1 β și antagomiR-urile, sunt propuse pentru a aborda inflamația și remodelarea miocardică.

Studiul 2. Rolul imagisticii prin rezonanță magnetică cardiacă în stratificarea riscului la pacienții cu miocardită acută

În studiul al doilea am utilizat evaluarea morfologică și funcțională a constatărilor IRMc, prospectiv, la un lot de 90 de pacienți cu suspiciune clinică de MA, unde IRMc a fost efectuată în prima săptămână de la debutul simptomelor și repetată după 6 luni. Am investigat corelația dintre procesul de remodelare al ventriculului stâng și biomarkerii asociați cu disfuncția cardiacă și fibroza miocardică. De asemenea, am evaluat valoarea prognostică a fibrozei miocardice prin măsurarea captării tardive de gadolinium (LGE) și a biomarkerilor circulanți de fibroză miocardică la acești pacienți. Astfel LGE, edemul miocardic și T1 nativ prelungit au fost predictorii ai evenimentelor cardiovasculare majore. Prezența LGE nu implică neapărat fibroză miocardică stabilită în prezența edemului și se poate rezolva în timp. LGE fără edem miocardic poate indica fibroză, în timp ce persistența edemului sugerează inflamație activă și ar putea fi asociată cu șansa de recuperare completă. IRMc ar trebui efectuat la toți pacienții cu MA la 6 luni pentru a evalua progresul și prognosticul bolii.

Studiul 3. Aspecte imagistice ecocardiografice în miocardita autoimună indusă experimental

În cel de-al treilea studiu al tezei, am evaluat modificările parametrilor morfo-funcționali cardiaci în miocardita autoimună indusă experimental, comparând efectele administrării de Mangiferină, Prednison și Trolox. Studiul a fost realizat pe 30 de șobolani adulți din rasa Wistar-Bratislava, repartizați aleatoriu în cinci grupuri: un grup control negativ (șobolani sănătoși netratați), un grup control pozitiv (șobolani cu miocardită indusă prin administrare de miozină porcină, netratați), și trei grupuri cu miocardită indusă, tratate cu Mangiferină, Prednison și Trolox. Evaluările ECG au arătat modificări de fază terminală (supra/subdenivelare de ST) în grupul control pozitiv și cel tratat cu Mangiferină în ziua a 7-a de experiment, modificări ameliorate la evaluarea finală în grupul tratat. De asemenea, prelungirea intervalului QTc observată în grupurile cu miocardită indusă a prezentat o tendință de ameliorare în grupul tratat cu Mangiferină. Datele ecocardiografice au indicat că Mangiferina a îmbunătățit semnificativ dimensiunile și

contractilitatea ventriculului stâng, demonstrând o eficacitate superioară comparativ cu administrarea de Trolox și Prednison în modelul experimental de miocardită autoimună.

Studiul 4. Efectele Mangiferinei în miocardita autoimună indusă experimental

În cadrul celui de-al patrulea studiu al tezei, am investigat efectele Mangiferinei asupra nivelurilor citokinelor pro-inflamatorii, markerilor de stres nitro-oxidativ și modificărilor histopatologice în cazul miocarditei autoimune induse experimental. Studiul a utilizat același protocol experimental menționat anterior, cu șobolani Wistar-Bratislava la care s-a indus miocardită prin administrare de miozină porcine. Rezultatele au evidențiat faptul că Mangiferina a redus semnificativ nivelurile de IL-1 β în comparație cu Prednisonul și Troloxul, confirmând astfel efectul său antiinflamator superior. De asemenea, Mangiferina a crescut capacitatea oxidativă totală și a redus considerabil nivelurile de oxid nitric, demonstrând un efect antioxidant puternic. În plus, tratamentul cu Mangiferină a dus la o scădere semnificativă a markerilor nespecifici de citoliză, cum ar fi creatin kinaza și aspartat aminotransferaza, sugerând un rol cardioprotectiv indirect, eficient. Confirmarea histopatologică a MA a arătat îmbunătățiri semnificative ale structurii miocardice în grupurile tratate cu Mangiferină, Prednison și Trolox. Rezultatele studiului indică faptul că Mangiferina are un potențial terapeutic promițător în tratamentul MA, însă sunt necesare studii suplimentare pentru a compara eficiența sa cu alte opțiuni terapeutice, pentru a determina pe deplin beneficiile sale clinice.

ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI

Studiul de față constituie o lucrare originală, având o contribuție semnificativă la tema actuală a MA. Această cercetare se axează pe noi metode de diagnostic neinvaziv în MA, concentrându-se pe biomarkerii circulanți. De asemenea, proiectul utilizează tehnici avansate de imagistică pentru a evalua morfologia și funcția cardiacă și pentru a corela aceste modificări cu biomarkerii circulanți, aducând în discuție aspecte care nu au fost suficient investigate în literatura de specialitate.

Lucrarea introduce o perspectivă teoretică inovatoare prin integrarea biomarkerilor specifici pentru fibroza miocardică în evaluarea pacienților cu MA. Până acum, procesul fiziopatologic al miocarditei a fost înțeles doar parțial, iar aplicabilitatea biomarkerilor în procesul diagnostic și prognostic al MA a fost limitată. Contribuția teoretică completează lacunele din literatura de specialitate și deschide noi direcții de cercetare pentru pacienții cu MA.

Proiectul subliniază importanța evaluării imagistice prin IRMc în evoluția pacienților cu MA, aspecte ce ar putea fi integrate în protocoalele de monitorizare. În plus, studiul experimental privind tratamentul adjuvant cu flavonoizi a arătat că intervenții accesibile pot avea efecte benefice asupra evoluției bolii, având potențialul de a genera studii extinse aplicabile în populația generală.

Prin rezultatele obținute, studiul nostru evidențiază relevanța și originalitatea abordării, deschizând noi oportunități în diagnosticarea și tratarea MA. În concluzie, cercetarea s-a desfășurat într-un context unic, fiind printre primele studii care investighează MA la nivel național, oferind o nouă perspectivă și contribuind la diversificarea și aprofundarea înțelegerii acestui subiect controversat.

CONCLUZII GENERALE

1. IRMc a pus în evidență LGE, edemul miocardic și prelungirea T1 nativ, care au fost identificați ca predictorii pentru evenimentele cardiovasculare majore.

2. IRMc a demonstrat o incidență ridicată a edemului miocardic și a leziunilor de LGE, cu predominanță în peretele septal și inferior al ventriculului stâng, la pacienții cu MA.

3. Prezența LGE nu indică întotdeauna fibroză, mai ales dacă este însoțită de edem și se poate rezolva în evoluție.

4. LGE fără edem sugerează prezența fibrozei, în timp ce persistența edemului indică inflamația activă.

5. Evaluarea IRMc la 6 luni este esențială pentru toți pacienții cu MA, pentru a monitoriza progresul și a stabili prognosticul bolii.

6. Galectin-3 a fost identificată ca un biomarker relevant în diagnosticarea fibrozei miocardice, cu o sensibilitate și specificitate ridicate la pacienții cu MA.

7. Tratamentul cu Mangiferină a redus dimensiunile ventriculului stâng și a avut un efect superior în remodelarea cardiacă comparativ cu efectele tratamentului cu Trolox și Prednison la animalele de experiență la care s-a indus MA.

8. Mangiferina și Prednisonul au redus nivelurile serice ale markerilor pro-inflamatori: TNF- α și IL-1 β .

9. Mangiferina a demonstrat superioritate față de Prednison în reducerea stresului oxidativ.

10. Confirmarea histopatologică a MA a arătat îmbunătățiri semnificative ale arhitecturii miocardice în grupurile tratate cu Mangiferină, Prednison și Trolox.

11. Prednisonul dincolo de efectele sale imunosupresoare a evidențiat limitări în utilizare ca potențial tratament în MA indusă experimental.

PHD THESIS - ABSTRACT

The diagnostic and prognostic contribution of modular imaging in acute myocarditis

PhD student **Alexandra Popa**

PhD supervisor Conf. Dr. **Lucia Agoșton-Coldea**



TABLE OF CONTENT

INTRODUCTION	15
CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	17
1. Acute Myocarditis – General Data	19
1.1. Definition and Classification	19
1.2. Pathophysiology of AM	20
2. Paraclinical Diagnosis in Acute Myocarditis	25
2.1. Endomyocardial Biopsy (EMB)	25
2.2. Plasma biomarkers	27
2.2.1. Myocardial Necrosis Biomarkers – Troponins	27
2.2.2. Cardiac Stress and Remodeling Biomarkers – Natriuretic Peptides	27
2.2.3. Fibrosis and Remodeling Biomarkers	28
2.2.3.1. Extracellular Matrix and Collagen Propeptides	28
2.2.3.2. Galectin -3	28
2.2.3.3. ST2	29
2.2.4. Osteopontin	29
2.2.5. Molecular biomarkers- micro RNA	30
2.3. Cardiac Magnetic Resonance Imaging	30
3. Treatment of Acute Myocarditis	33
3.1. Symptomatic treatment	33
3.2. Etiological treatment	34
3.3. Pathogenetical treatment	34
3.4. New Therapies	35
4. Experimental Models in Acute Myocarditis	37
PERSONAL CONTRIBUTION	39
1. Working Hypothesis. Objectives	41
2. Study 1. Novel insights of acute myocarditis in pediatric patients	43
2.1. Introduction	43
2.2. Working hypothesis	43
2.3. Materials and method	44
2.4. Results	45
2.4.1. Pathogenesis in AM. Immune system cells and the inflammasome. Molecular mechanisms	45
2.4.2. Pathogenesis in AM. Autoimmune and autoinflammatory theory	48
2.4.3. Paraclinical exploration in AM	49
2.4.3.1. Immunology. Viral straining	49
2.4.3.2. Circulating biomarkers	50
2.4.3.3. Micro-RNA	52
2.4.4. Future therapeutical perspective	54
2.5. Discussion	56
2.6. Conclusions	56
3. Study 2. The Role of Cardiac Magnetic Resonance Imaging in risk stratification for patients with acute myocarditis	57
3.1. Introduction	57
3.2. Working hypothesis	58
3.3. Materials and method	58
3.3.1. Patients	58
3.3.2. CMRI	59

3.3.3. Clinical monitoring	61
3.3.4. Statistical analysis	61
3.4. Results	62
3.4.1. General characteristics	62
3.4.2. Characteristics of patients evaluated by cMRI	64
3.4.3. Biomarker capacity to diagnose myocardial fibrosis in AM	65
3.4.4. Determination of independent predictive factors of major cardiovascular events	66
3.5. Discussions	68
3.6. Conclusions	70
4. Study 3. Echocardiographic imaging aspects in experimental induced autoimmune myocarditis	71
4.1. Introduction	71
4.2. Working hypothesis	72
4.3. Materials and method	72
4.3.2. Study design	72
4.3.3. Electrocardiography. Echocardiography	74
4.3.4. Histopathological evaluation	74
4.3.5. Statistical methods	74
4.4. Results	75
4.4.1. ECG results	75
4.4.2. Echocardiographic results	76
4.5. Discussions	78
4.6. Conclusions	80
5. Study 4. Effects of Mangiferin in experimental induced autoimmune myocarditis	81
5.1. Introduction	81
5.2. Working hypothesis	83
5.3. Materials and method	83
5.3.1. Animals	83
5.3.2. Biochemical measurements	83
5.3.3. Histopathological evaluation	83
5.3.4. Statistical methods	84
5.4. Results	84
5.4.1. Biochemical results	84
5.4.2. Histopathological results	88
5.5. Discussions	90
5.6. Conclusions	91
6. General conclusions	93
7. Originality and Innovative Contributions of the Thesis	95
REFERENCES	97

KEYWORDS

Acute myocarditis, myocardial inflammation, cardiac fibrosis biomarkers, cardiac MRI, ventricular remodeling, major cardiovascular events, experimental model, nitro-oxidative stress, flavonoids, Mangiferin.

INTRODUCTION

Acute myocarditis (AM) is an inflammation of the myocardium with a recent onset, typically within one month, and presents diagnostic challenges due to the lack of specific symptoms and its unpredictable course. The actual incidence of AM is likely underestimated, as many cases go undiagnosed and untreated. AM is a major cause of progressive cardiac remodeling and major cardiovascular events, placing a significant burden on healthcare systems due to repeated hospitalizations and high mortality rates, despite therapeutic advancements. A key factor in the disease progression is myocardial fibrosis, which negatively affects patient prognosis.

The clinical diagnosis of AM is complicated by symptom variability, which can include chest pain, shortness of breath, fatigue, palpitations, arrhythmias, and even sudden death in children and adolescents. While echocardiography is a non-invasive method, it has limitations in precisely diagnosing AM due to its reduced sensitivity and specificity. Endomyocardial biopsy (EMB), considered the gold standard, has limited sensitivity and post-procedural risks, which restrict its routine use. Cardiac magnetic resonance imaging (cMRI) is a valuable tool for diagnosing acute myocarditis, providing a non-invasive assessment of myocardial inflammation and fibrosis. Repeated cMRI evaluations at 3- and 6-month intervals are important for monitoring disease progression, providing insight into the normalization of cardiac function or the progression toward dilated cardiomyopathy, malignant ventricular arrhythmias, heart failure, and sudden death. Additionally, circulating fibrosis biomarkers, such as Galectin-3, collagen propeptides (PICP and PIIINP), offer further information on the pro-fibrotic state of the myocardium. These biomarkers may help assess the risk of sudden cardiac death, providing a clearer picture of the disease's severity and progression.

Understanding the pathogenesis of myocarditis is crucial for adapting treatment, as etiologies can vary from viral infections to autoimmune reactions, each leading to distinct inflammatory and immune responses. In addition to standard treatments, current research explores potential therapies targeting the inflammatory and fibrotic pathways involved in myocarditis. Flavonoids, especially Mangiferin, a compound extracted from *Mangifera indica*, have shown significant cardioprotective effects. Ongoing experimental studies are exploring the therapeutic potential of these compounds in treating myocarditis, offering new perspectives for patients.

The thesis is organized into two sections, following the standard structure: the general part consists of a systematic review of the literature, addressing the clinical, imaging, and histological aspects of patients with AM, with a special focus on the molecular mechanisms responsible for the development of myocardial edema and fibrosis. It also includes a description of imaging methods used to diagnose cardiac damage and current therapeutic options, highlighting the latest treatment trends. The personal contribution section presents the research objectives and stages in an introductory chapter, followed by a detailed exposition of the original studies conducted within the project.

CURRENT STATE OF THE ART

The first chapter provides a comprehensive synthesis of general information on AM, including the classification and pathophysiological mechanisms underlying this condition. The diverse etiology of the disease, from infectious to autoimmune causes, is analyzed, and the complex processes of myocardial inflammation and fibrosis are explained, with particular emphasis on how these mechanisms influence disease progression.

The second chapter focuses on diagnostic methods for AM, detailing the currently available approaches. After reviewing the standard method—endomyocardial biopsy (recognized as the "gold standard")—and plasma biomarkers reflecting myocardial necrosis and cardiac stress, the chapter delves into the description of fibrosis and cardiac remodeling biomarkers, including collagen propeptides and Galectin-3. The emerging role of micro-RNAs is also highlighted, as they are becoming increasingly relevant in understanding the pathological processes in AM. The chapter also provides a detailed analysis of cMRI, emphasizing its diagnostic and prognostic value in assessing AM patients.

The third chapter explores current therapeutic strategies for AM, presenting both standard treatments and emerging trends in medical research, including novel therapies targeting the disease pathophysiological mechanisms.

The fourth chapter describes the most commonly used experimental methods in AM research. *In vivo* experimental models are presented, which allow for a deeper understanding of disease mechanisms and serve as platforms for testing new therapeutic approaches.

PERSONAL CONTRIBUTION

The second part of the doctoral thesis is organized into four distinct chapters, beginning with a literature review, followed by a clinical study, and continuing with two experimental studies. These studies reflect the direct application of theoretical knowledge in medical practice, making significant contributions to the advancement of the field through innovative discoveries.

Study 1. Novel insights on acute myocarditis in pediatric patients

The first study analyzes in detail the pathogenesis of AM and biochemical diagnostic methods, focusing on the pediatric population. A systematic search of PubMed and Google Scholar, limited to articles published between 2013 and 2023, highlighted that AM in the pediatric population has a predominantly viral etiology, with an inflammatory process that unfolds in three phases: acute, subacute, and chronic. Endomyocardial biopsy is the gold standard for diagnosing myocarditis; however, in children, the diagnosis is often clinical due to procedural risks. The Dallas criteria provide a histopathological framework, while immunohistochemistry and polymerized chain reaction (PCR) techniques improve diagnostic accuracy. Diagnosis can be complicated by the accessibility of affected areas, which is why alternatives such as PCR analysis from tracheal aspirate samples are being investigated. Biomarkers such as collagen propeptides provide information on the severity of cardiac lesions and the risk of heart failure, while Galectin-3 facilitates the transition from acute to chronic inflammation, playing a pro-fibrotic role. Alongside these, micro-RNAs have shown significant potential in current studies for diagnosing and prognosticating myocarditis. Treatment focuses on symptomatic therapy, and new options, such as IL-1 β antagonists and antagomiRs, are proposed to address myocardial inflammation and remodeling.

Study 2. The Role of Cardiac Magnetic Resonance Imaging in Risk Stratification of Patients with Acute Myocarditis

In the second study, we used a prospective cMRI assessment of morphological and functional findings in 90 patients with clinically suspected AM. cMRI was performed in the first week after symptom onset and repeated after six months. We analyzed the relationship between left ventricular remodeling and biomarkers of cardiac dysfunction and myocardial fibrosis, as well as the prognostic significance of myocardial fibrosis using late gadolinium enhancement (LGE) and circulating fibrosis biomarkers. LGE, myocardial edema, and prolonged native T1 emerged as predictors of major cardiovascular events. The presence of LGE does not always signify established fibrosis if accompanied by edema and may resolve over time. LGE without edema likely indicates fibrosis, whereas persistent edema suggests active inflammation and may still allow for full recovery. A cMRI follow-up at six months is recommended for all AM patients to assess disease progression and prognosis.

Study 3. Echocardiographic Imaging in Experimental Induced Autoimmune Myocarditis

In the third study of the thesis, we evaluated changes in cardiac morpho-functional parameters in experimental induced autoimmune myocarditis, comparing the effects of Mangiferin, Prednisone, and Trolox administration. The study was conducted on 30 adult Wistar-Bratislava rats, randomly divided into five groups: a negative control group (untreated healthy rats), a positive control group (rats with induced myocarditis through porcine myosin administration, untreated), and three groups with induced myocarditis treated with Mangiferin, Prednisone, and Trolox. ECG evaluations showed terminal phase changes (ST elevation/depression) in the positive control group and the group treated with Mangiferin on day 7 of the experiment, with improvements noted in the final evaluation for the Mangiferin-treated group. Additionally, the QTc interval prolongation observed in the myocarditis-induced groups showed a tendency toward improvement in the Mangiferin-treated group. Echocardiographic data indicated that Mangiferin significantly improved left ventricular dimensions and contractility, demonstrating superior efficacy compared to Trolox and Prednisone in the experimental model of autoimmune myocarditis.

Study 4. The Effects of Mangiferin in Experimental Induced Autoimmune Myocarditis

In the fourth study of the thesis, we investigated the effects of Mangiferin on pro-inflammatory cytokine levels, nitro-oxidative stress markers, and histopathological changes in experimental induced autoimmune myocarditis. The study used the same experimental protocol as in the previous study, with Wistar-Bratislava rats in which myocarditis was induced by porcine myosin administration. The results showed that Mangiferin significantly reduced IL-1 β levels compared to Prednisone and Trolox, confirming its superior anti-inflammatory effect. Furthermore, Mangiferin increased total oxidative capacity and significantly reduced nitric oxide levels, demonstrating a strong antioxidant effect. Additionally, treatment with Mangiferin led to a significant reduction in non-specific myocardial injury markers, such as creatine kinase and aspartate aminotransferase, suggesting an indirect cardioprotective role. Histopathological confirmation of AM revealed significant improvements in myocardial structure in all treated groups. These findings indicate that Mangiferin holds promising therapeutic potential for treating AM, although further studies are needed to compare its efficacy with other therapeutic options, such as Prednisone or Trolox, to fully assess its clinical benefits.

ORIGINALITY AND INNOVATIVE CONTRIBUTIONS OF THE THESIS

The present study constitutes an original work, making a significant contribution to the current topic of AM. This research focuses on new non-invasive diagnostic methods for AM, emphasizing circulating biomarkers. The project also employs advanced imaging techniques to assess cardiac morphology and function, correlating these changes with circulating biomarkers, addressing aspects that have not been sufficiently explored in the scientific literature.

The study introduces an innovative theoretical perspective by integrating specific biomarkers for myocardial fibrosis into the evaluation of patients with AM. Until now, the pathophysiological process of myocarditis has only been partially understood, and the application of diagnosis and prognosis based on fibrosis biomarkers has been limited. This theoretical contribution helps fill gaps in the literature and opens new research directions for patients with AM.

The project highlights the importance of imaging assessment using cMRI in the evolution of patients with AM, aspects that could be integrated into monitoring protocols. Additionally, the experimental study on adjuvant treatment with flavonoids demonstrated that accessible interventions can have beneficial effects on disease progression, with the potential to generate extensive studies applicable to the general population.

Through its results, our study underscores the relevance and originality of the approach, opening new opportunities in diagnosing and treating AM.

In conclusion, the research was conducted in a unique context, being among the first studies investigating AM at the national level, offering a new perspective and contributing to the diversification and deepening of the understanding of this controversial topic.

GENERAL CONCLUSIONS

1. CMR highlighted LGE, myocardial edema, and prolonged native T1, which were identified as predictors of major cardiovascular events.
2. CMR demonstrated a high incidence of myocardial edema and LGE lesions, predominantly in the septal and inferior wall of the left ventricle, in patients with AM.
3. The presence of LGE does not always indicate fibrosis, especially if accompanied by edema, and can resolve over time.
4. LGE without edema suggests the presence of fibrosis, while persistent edema indicates active inflammation.
5. CMR evaluation at 6 months is essential for all patients with AM to monitor progress and establish the prognosis of the disease.
6. Galectin-3 was identified as a relevant biomarker for diagnosing myocardial fibrosis, with high sensitivity and specificity in patients with AM.
7. Treatment with Mangiferin reduced LV size and showed superior effects in cardiac remodeling compared to the effects of treatment with Trolox and Prednisone in experimental animals with induced AM.
8. Mangiferin and Prednisone reduced serum levels of pro-inflammatory markers TNF- α and IL-1 β .
9. Mangiferin demonstrated superiority over Prednisone in reducing oxidative stress.
10. Histopathological confirmation of AM showed significant improvements in myocardial architecture in the groups treated with Mangiferin, Prednisone, and Trolox.
11. Beyond its immunosuppressive effects, Prednisone demonstrated limitations in its use as a potential treatment for experimentally induced AM.