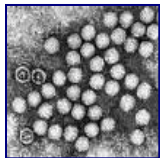
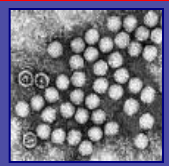


Myocardite et Mort Subite Cardiaque

L. Andreoletti

Unité de Virologie Médicale et Moléculaire, EA-4684
CHU et faculté de Médecine de Reims

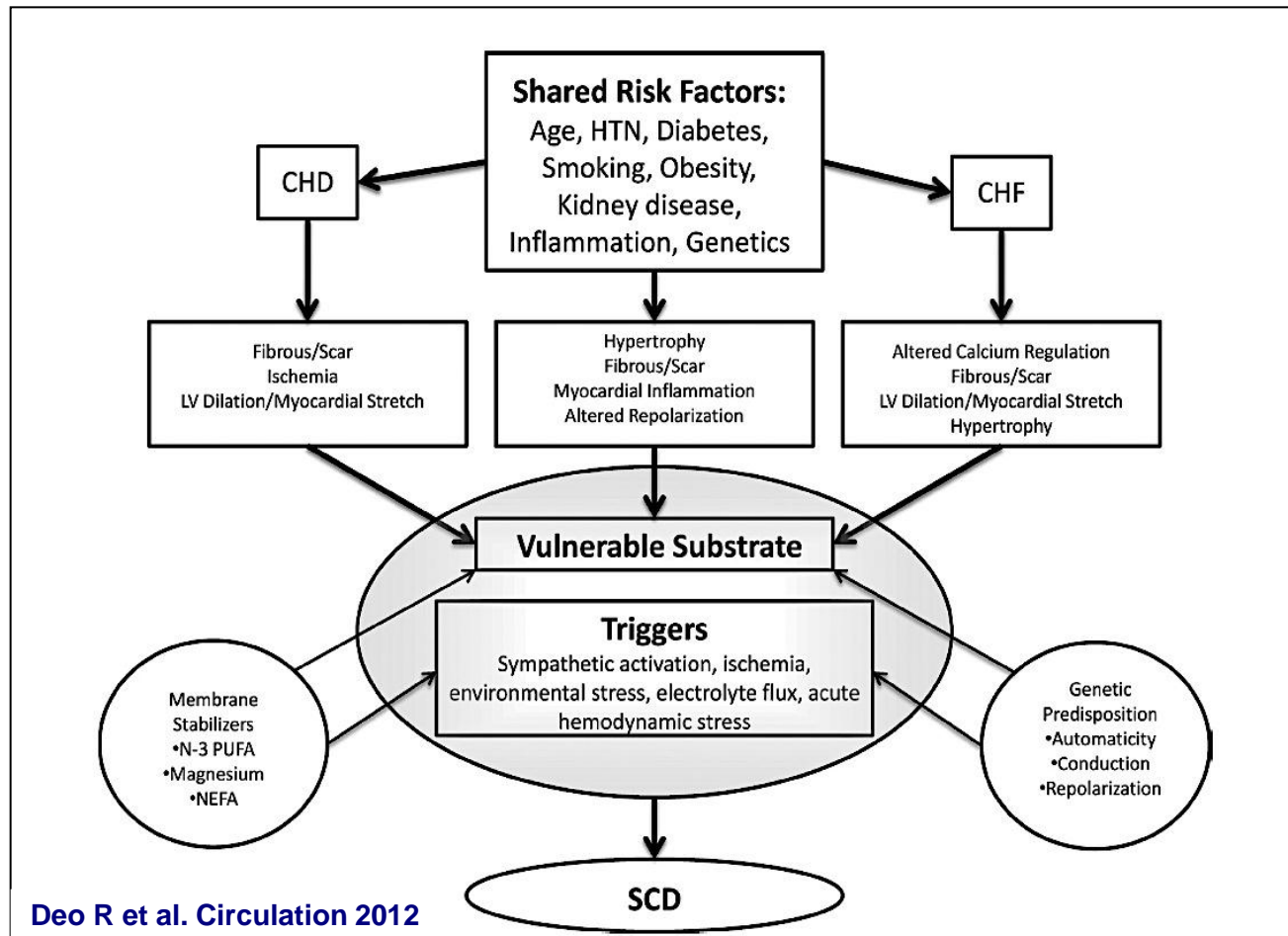




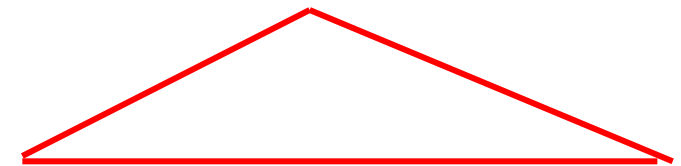
Mort subite Cardiaque: des causes arythmiques à explorer!

Mort naturelle inattendue qui survient dans l'heure qui suit d'éventuels symptômes:

- 50 to 100/100 000 dans la population générale (Irlande, Pays-bas, USA, Chine)
- 88% à 91% : causes arythmiques
- Taux de survie après réanimation : 7,9%

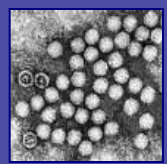


Substrat arythmogène



- Facilitateur:**
- **Système sympathique**
 - **Ischémie**
 - **Hypoxie**
 - **Troubles métaboliques**
 - **Troubles hydroélectrolytiques**
 - **Toxique**

Myocardite= substrat arythmogène dans 1 à 1,5 % des MSC?



Myocardite : La classification de Dallas

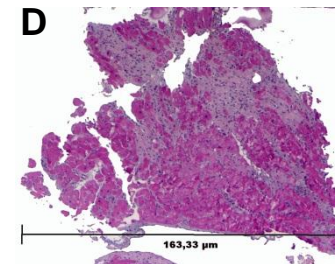
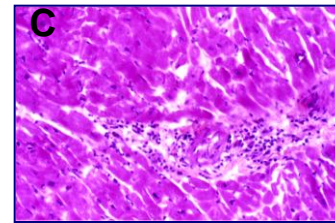
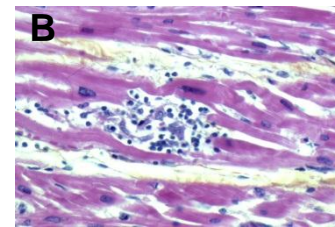
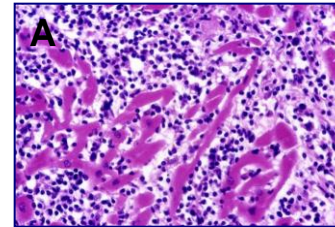
Une myocardite aiguë est définie par une nécrose myocardique non ischémique associée à une inflammation.

Il existe plusieurs formes histologiques :

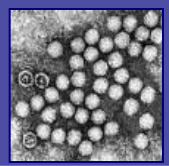
- Aiguë et diffuse (A)
- Aiguë et focale (B)
- Border-line (C)

Au stade chronique, on distingue :

- Une forme fibreuse pure (D)
- Une forme chronique active



5 à 10 prélèvements (VD et VG) sont nécessaires pour le diagnostic histologique car les formes focales sont fréquentes



Myocardite en 2012: la Mort des critères de Dallas....??

Diagnosis of Myocarditis

Death of Dallas Criteria

Kenneth L. Baughman, MD

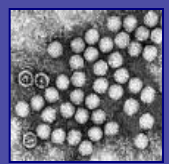
(*Circulation*. 2006;113:593-595.)

En pratique: problèmes de sensibilité et de reproductibilité=

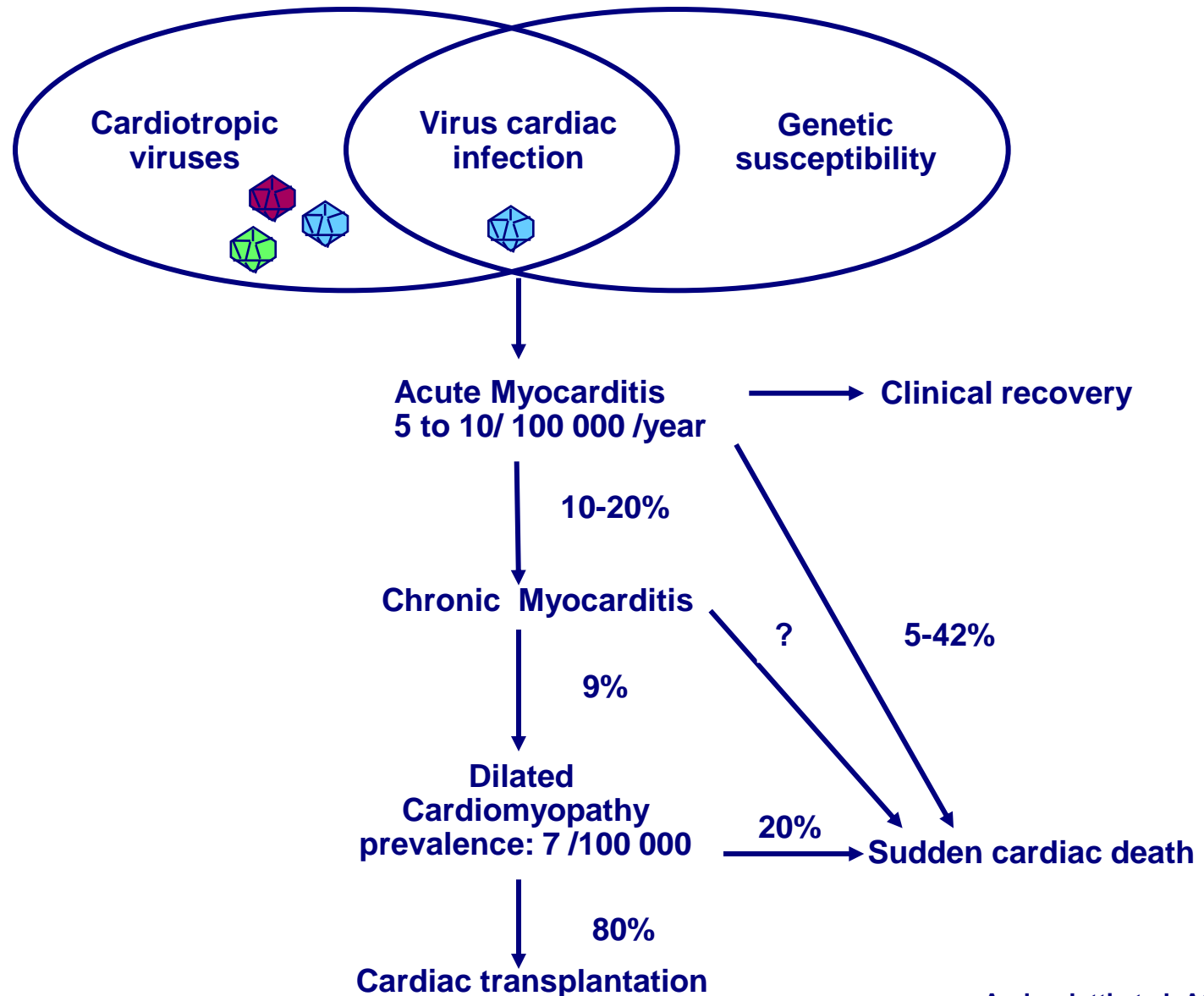
- <10% des patients souffrant de myocardite sont positifs en Histologie
- 50% des patients avec une CMD= pas d'étiologie identifiée (CMDI)
- Martin et al. (*Circulation* 1994) Seule 13/26 myocardites virales (PCR +) sont histologiquement positives
- Andreoletti et al. (*JID* 2000; *ACDV* 2009) 33% de 70 CMDI patients sont virus (+) et histologie (-)
- Les nouvelles techniques d'imagerie quantifient et cartographient l'inflammation cardiaque (IRM gadolinium)

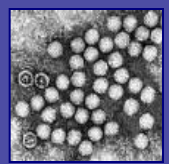


Négativité des critères de Dallas avec des marqueurs d'infection virale ou d'auto-immunité cardiaque



Infection Virale et Mort Subite Cardiaque



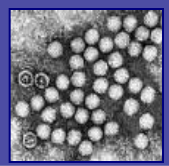


Myocardite : les causes virales en 2012

Human cardiotropic viruses	Active myocarditis (%)	Dilated cardiomyopathy (%)
Coxsackie virus type B	14–32.6	8–35
Parvovirus B19	< 1–36.6	51.4
Human herpesvirus 6	10.5	21.6
Adenovirus	8.1–23	1.6–12
Multiple infections (60% of cases = parvovirus B19 + human herpesvirus 6)	12.2	27
Rare viral causes (non-restrictive list) ^a		
Cytomegalovirus ^a	3	0.8
Epstein-Barr virus ^a	< 1	2
Herpes simplex virus ^a	< 1	NA
Influenza viruses	< 1–2	NA

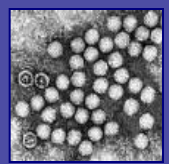
NA: not available.
^a Except in cases of cardiac transplantation.

 **virus = myocardite + modulation des voies calciques dans les cardiomyocytes**



Objectifs de nos travaux sur virus et MSC

- ❑ **Préciser la prévalence de détection des infections virales cardiaques simples et multiples dans des cas de mort cardiaque subite**
- ❑ **Déterminer les niveaux de charges virales normalisées dans les tissus cardiaques des cas de mort subite en fonction de la localisation anatomique et des données histologiques**



Patients et sujets contrôles

▪ Patients

Banque de prélèvements : tissus congelés autopsiques (2008-2012, CHU de Reims)

Sélection de 24 sujets adultes (34 ans: 13;16-62): mort subite cardiaque (autopsies médico-légales).

5 à 10 fragments du VG

5 à 10 fragments du VD

Total number of studied patients (n)	24
Heart samples (RV/LV)	91/106
Sex (M/F)	14/10
Age in years, mean (SD, range)	34 (13,16-62)
Underlying cardiac pathologies (n)	
Coronary heart disease	5
IDCM	1
Genetic DCM	1
Congenital	1
ARVD	1
None (probable primary arrhythmia)	15

▪ **Sujets contrôles: 14 Cas de morts violentes (suicides ou AVP) sans lésions histologiques ni cardiomyopathies connues (Age moyen 57 ans (15,41-63))**

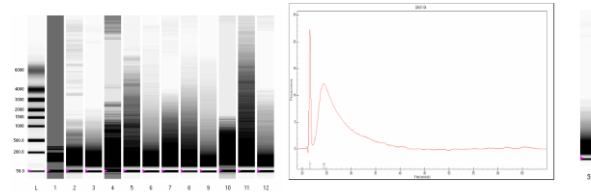
Méthodes

Extraction of ARN/ADN

Tissus cardiaques
congelés



Contrôle (Experion system)



Detection (PCR and microarray system)

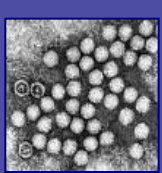
Amplification dans 2 microtubes



quantification = RTq-PCR assays for cardiac tissue

(Andreoletti et al. ACDV 2009)

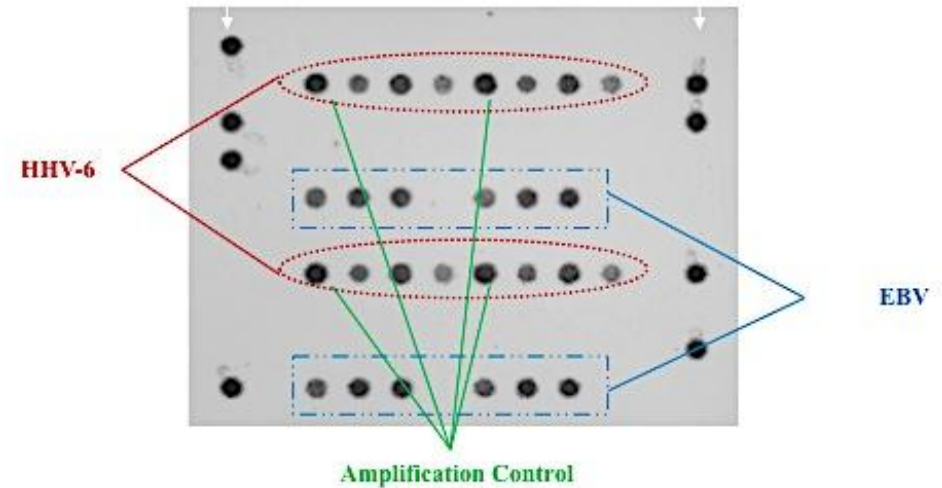
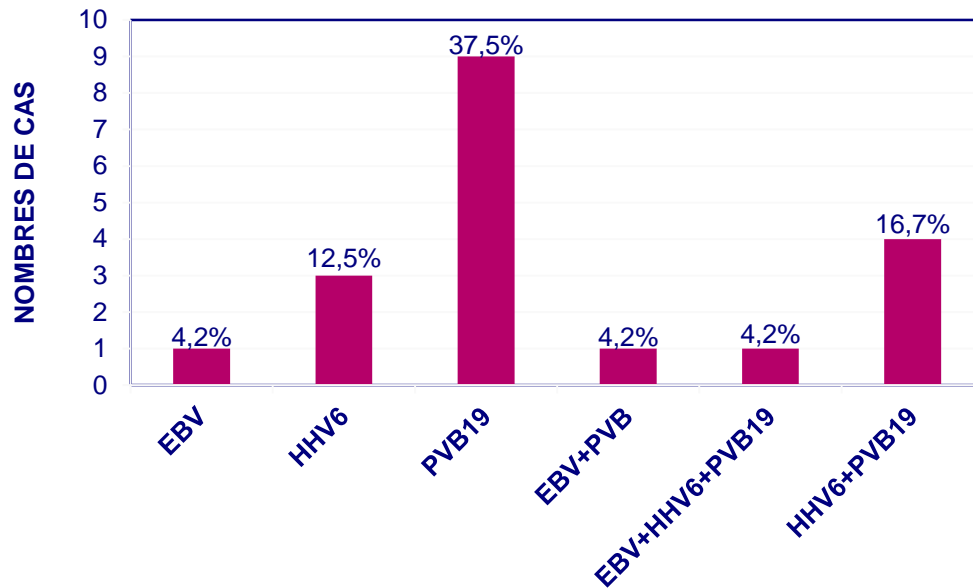
EV, PVB19, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, ADV, VZV (QCMD Controls)



Resultats (1/2) :

Détection virale dans les tissus cardiaques des cas de MSC

19/24 (79%) => identification d'une infection virale cardiaque simple ou multiple



Absence de pathologie cardiaque et histologie normale :
Présence d'une pathologie associée et/ou histologie anormale:
(Myocardite chronique, CMDI;CMD génétique, PTI)

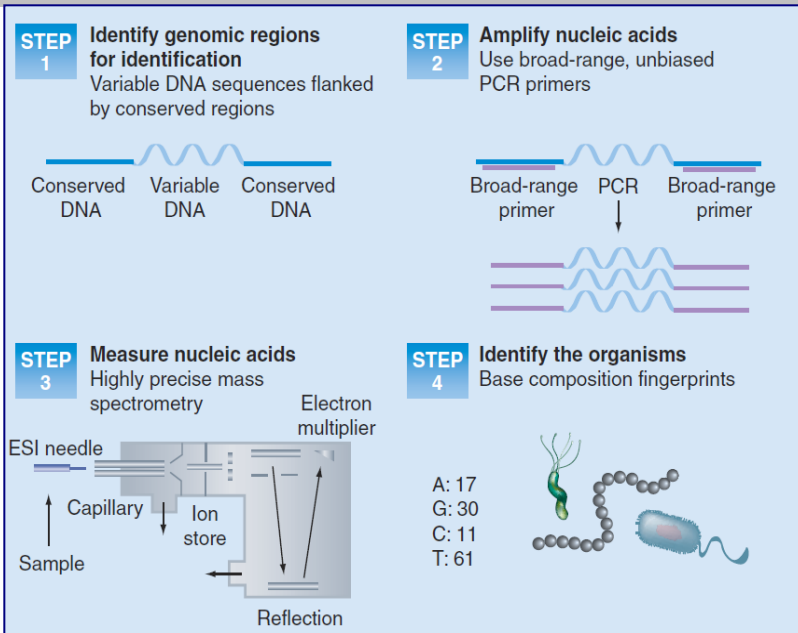
15/19 (79%)
4/19 (21%) (21 vs. 79%; P<0,001)

Sujets contrôles: 1 cas de PVB19 sur les 14 patients (0,53%)

➡ EBV, PVB19 et HHV6 = agents étiologiques ou cofacteurs de la MSC de l'adulte

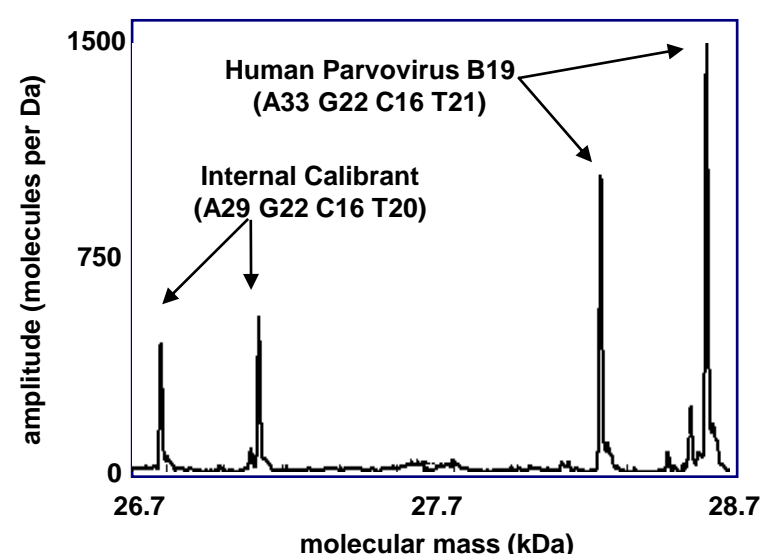
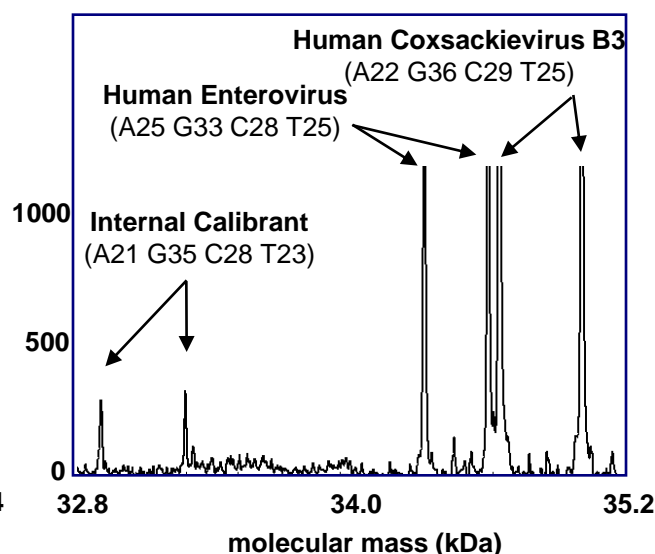
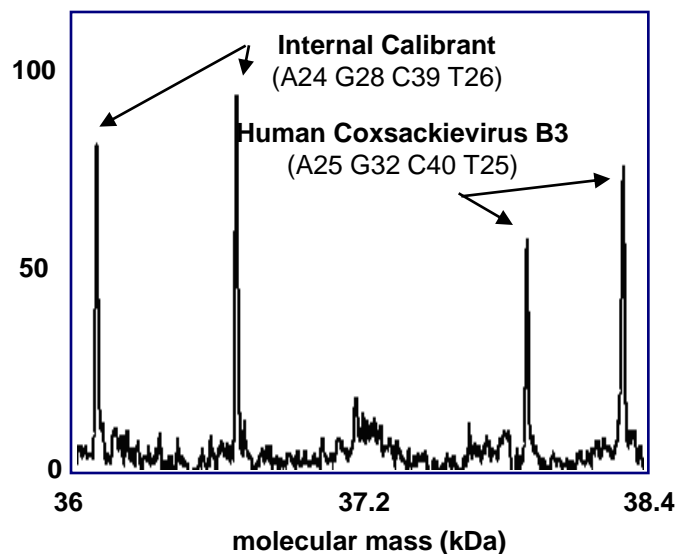


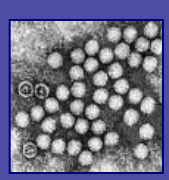
Détection et Génométypage Rapide des Virus Cardiotropes par PCR et Spectrométrie de Masse



Viral sterile Fluids Assay (T5000, 16 wells)

Alphaherpesvirus 1 339	Adenovirus 1 943
Alphaherpesvirus 2 3399	Adenovirus 2 769
Betaherpesvirus 1 3379	Alphavirus 1 966
Betaherpesvirus 2 3377	Alphavirus 2 2499
Gammaherpesvirus 1 3407	Enterovirus 1 3760
Gammaherpesvirus 2 3405	Enterovirus 2 3758
Parvovirus 1 3110	Flavivirus 1 2215
Parvovirus 2 3118	Flavivirus 2 2217





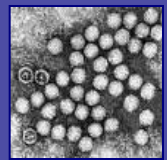
IDM et mort subite : l'Hypothèse Virale (I) !

Enteroviruses Can Persist with or without Active Viral Replication in Cardiac Tissue of Patients with End-Stage Ischemic or Dilated Cardiomyopathy

The Journal of Infectious Diseases 2000;182:1222–7

Patients	No. tested	Enteroviral markers positive in endomyocardial biopsies, no. (%) of patients positive			
		Plus-strand RNA, minus-strand RNA, VP1 capsid protein	Plus-strand RNA, VP1 capsid protein	Plus-strand RNA	No markers
IDCM	70	2 (2.9)	15 (21.4)	8 (11.4)	45 (64.3)
CCD	64	1 (1.6)	8 (12.5)	12 (18.7)	43 (67.2)
Donors	45	0	0	0	45 (100)

NOTE. Genomic enterovirus (plus strand) and antigenomic (negative strand) RNA were detected by seminested reverse transcriptase–polymerase chain reaction. Enterovirus VP1 capsid protein was detected by endomyocardial immunostaining.



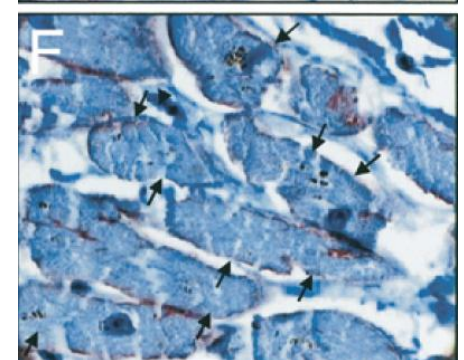
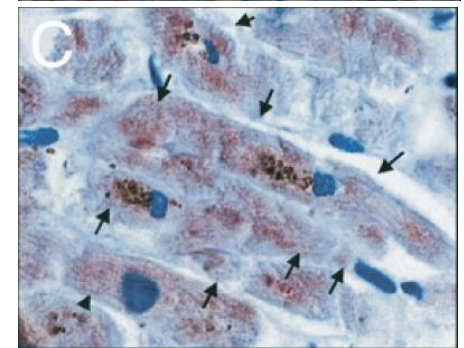
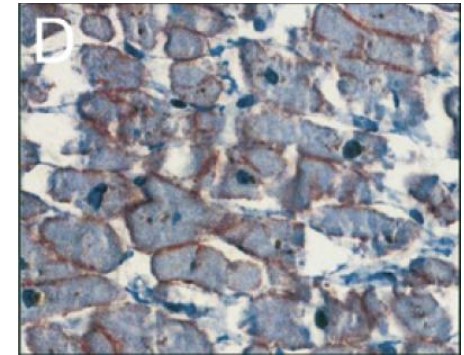
IDM et Mort Cardiaque Subite : l'Hypothèse Virale (II) !

Active Coxsackieviral B Infection Is Associated With Disruption of Dystrophin in Endomyocardial Tissue of Patients Who Died Suddenly of Acute Myocardial Infarction

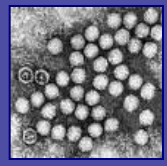
Subject Group	Total, n	Age, mean (SD, Range), yrs	Gender, M/F	Patients Positive for, n (%)	
				VP1	5'-NCR RNA
Patients with acute myocardial infarction					
Inaugural acute myocardial infarction	28	53 (14, 21-81)	20/8	12 (43)*	10 (36)
History of chronic coronary heart disease	22	60 (15, 29-92)	20/2	8 (36)	8 (36)
Total	50	56 (14, 21-92)	40/10	20 (40)	18 (30)
Control subjects without cardiac disease					
Control subjects without cardiac disease	50	50 (14, 15-73)	40/10	2 (4)†	2 (4)
Control subjects with other chronic cardiac disease					
Chronic valvulopathy	20	43 (8, 18-65)	16/4	0	0
Congenital cardiac disease	15	25 (9, 15-45)	11/4	2 (13)	0
Obstructive cardiomyopathy	15	44 (10, 35-63)	13/2	2 (13)	2 (13)
Total	50	44 (9, 15-65)	40/10	4 (8)‡	2 (4)

*p = 0.64 by Pearson chi-square test comparing the 2 groups with acute myocardial infarction (MI). †p < 0.0001 by McNemar chi-square test compared with the 50 patients with acute MI, on paired data. ‡p = 0.0002 by McNemar chi-square test compared with the 50 patients with acute MI, on paired data.

5'-NCR = 5'-noncoding region; RNA = ribonucleic acid; VP1 = capsid viral protein 1.



Enterovirus = cause ou cofacteur de mort subite dans des cas d'IDM

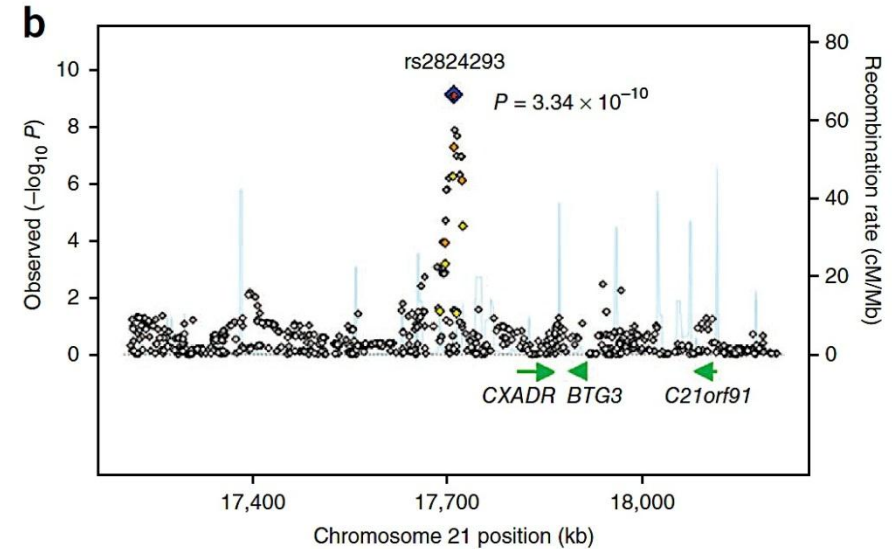


IDM et mort cardiaque subite: la susceptibilité génétique

Genome-wide association study identifies a susceptibility locus at 21q21 for ventricular fibrillation in acute myocardial infarction

Table 1 Baseline characteristics of the AGNES case-control set

Characteristic	<i>N</i> ^a	Total ^b	Cases ^c	Controls ^d	<i>P</i> ^e
Sex (male) ^f		783 (80.6)	412 (80.0)	371 (81.2)	0.6850
Mean age at myocardial infarction ^g		56.4 ± 11	55.9 ± 11.2	56.9 ± 10.8	0.1740
Median ST segment deviation-mm (IQR)	735, 379, 356	17 (19)	22 (22)	14 (14)	<0.0001
Myocardial infarction location^f	962, 505, 457				
Inferior myocardial infarction		408 (42.4)	203 (40.2)	205 (44.9)	0.1442 ^h
Anterior myocardial infarction		554 (57.6)	302 (59.8)	252 (55.1)	
Median CK-MB-μg/l (IQR)	786, 359, 427	215 (299.2)	225.6 (365.2)	211.4 (257.7)	0.0210
Family history of sudden death ^f	909, 459, 450	291 (32.0)	174 (37.9)	117 (26.0)	<0.0001
Beta blocker usage ^f	936, 482, 454	85 (9.1)	50 (10.4)	35 (7.7)	0.1726
Cardiovascular risk factors^f					
Current smoking	914, 473, 441	565 (61.8)	303 (64.1)	262 (59.4)	0.1531
Diabetes mellitus	893, 462, 431	62 (6.94)	21 (4.6)	41 (9.5)	0.0040
Hypertension		294 (30.2)	149 (28.9)	145 (31.7)	0.3633
Hypercholesterolemia		297 (30.6)	127 (24.7)	170 (37.2)	<0.0001
BMI ⁱ	879, 439, 440	26.5 ± 3.9	26.1 ± 3.8	26.9 ± 4.0	0.0042



CXADR encodes a viral receptor previously implicated in myocarditis and dilated cardiomyopathy and which has recently been identified as a modulator of cardiac conduction.

Conclusions

Myocardite et mort subite cardiaque: histologie

- 5 à 10 fragments de tissus congelés en VD & VG: formes focales fréquentes
- Limites des analyses histologiques: faible sensibilité et mauvaise reproductibilité inter-laboratoires
- Histologie négative avec virologie positive

Myocardite et mort subite cardiaque: virologie

- Identification d'une infection virale cardiaque simple ou multiple dans 62.5 % des cas de MSC avec un coeur normal et dans 17 % de cas de MSC avec une pathologie cardiaque connue
- Trois virus communs sont retrouvés par biologie moléculaire : HHV6, PVB19, EBV
- Leur rôle comme agent causal ou cofacteur reste à préciser (CV, génotype, phénotype: usage des récepteurs cellulaires)

Mort subite cardiaque: virus = arythmies ventriculaire et dysfonctionnement du cardiomyocyte

- Exemple des Entérovirus (CVB3): modulation des voies calciques dans les cardiomyocytes humains
- Rôle des Entérovirus dans IDM: rôle du locus CXARD dans la fixation du virus et la modulation de conduction électrique cardiaque et clivage de la dystrophine par la protéase virale 2C

Myocardite et mort subite cardiaque: en pratique!!

- MSC et autopsie: recherche des virus communs par biologie moléculaire sur tissus congelés (VD & VG): étiologie!
- MSC et sujets réanimés: recherche d'un terrain arythmogène (canalopathies) + myocardite virale (IRM cœur)
- Arythmies ventriculaires fréquentes dans la phase aiguë de la myocardite virale: pronostic favorable avec peu de récurrences si réanimation après MSC.

Acknowledgments



Cardiology Dpt
HEGP Paris
P Bruneval

Abbott Molecular
Marcus Picard
Eric Gaillard
Alain Bitbol

Infectious Diseases Dpt
CHU de REIMS
C Strady

Virology Dpt
N Lévêque
Y Nguyen
F Renois
F Bouillot



Pathology Dpt
CHU de REIMS
P Fornes
C Boulagnon
C Fichel

