



Déterminants du remodelage atrial et de son effet pro-arythmique dans la fibrillation atriale

Jean-Baptiste Guichard

**Programme de Sciences Biomédicales
Faculté de Médecine, Université de Montréal, Québec, Canada**

**École doctorale Sciences-Ingénierie-Santé
Université Jean Monnet de Saint-Étienne, France**

**Thèse présentée à la Faculté de Médecine de l'Université Jean Monnet
En vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D.)**

©Juin 2019

Résumé

Rationnel et objectif - La fibrillation atriale (FA) est la pathologie rythmique supra-ventriculaire la plus fréquemment diagnostiquée. Le remodelage atrial, qu'il soit électrique ou structurel, conduit à la mise en place et au développement de la cardiomyopathie atriale. La cardiomyopathie atriale est responsable de différentes complications : d'une part mécaniques conduisant à l'augmentation du risque thrombo-embolique et de l'insuffisance cardiaque, d'autre part électriques conduisant à différentes arythmies atriales dont la FA. L'objectif du présent travail est de caractériser les déterminants du remodelage atrial et de leur effet pro-arythmique à l'étage supra-ventriculaire dans la FA.

Principaux résultats –

Le premier axe de recherche a permis d'objectiver le remodelage induit par le flutter atrial (FLA) chronique à l'aide d'un modèle chronique canin. Le FLA est à l'origine d'un remodelage atrial électrique avec une augmentation de la vulnérabilité à développer de la FA et une diminution des périodes réfractaires effectives (PRE). Cependant, le FLA n'induit pas de remodelage structurel avec notamment l'absence d'augmentation de la durée de FA, de diminution des vitesses de conduction et d'augmentation du processus fibrotique atrial. À noter que la FA chronique, en présence d'un substrat anatomique de FLA, présente des caractéristiques électrophysiologiques originales, en terme de durée de cycle et de d'arythmie et de sa stabilité. De plus, l'ablation du FLA permet de diminuer significativement la durée mais pas la vulnérabilité à présenter des arythmies supra-ventriculaires.

Le second axe de recherche a permis de caractériser le rôle différentiel de l'arythmie atriale de la réponse ventriculaire rapide en cas de FA dans le développement

du remodelage atrial. Nos travaux ont caractérisé le remodelage atrial induit par l'arythmie atriale isolée en cas de FA : d'une part électrique *via* la diminution des PRE et l'augmentation de la vulnérabilité ; d'autre part structurel *via* la diminution des vitesses de conduction et les anomalies des canaux sodiques, des jonctions communicantes et du processus fibrotique. La réponse ventriculaire rapide isolée induit également un remodelage atrial à type d'augmentation de la vulnérabilité, de diminution des vitesses de conduction, d'anomalies modérées du processus fibrotique et des canaux sodiques. À noter une dégradation modérée de la fonction systolique ventriculaire gauche. Cependant, ce remodelage atrial est significativement différent du remodelage induit par l'insuffisance cardiaque. De plus, il existe un effet synergique au niveau du remodelage atrial de l'arythmie atriale et de la fréquence ventriculaire élevée en cas de FA, au niveau du processus fibrotique notamment.

Le troisième axe de recherche a permis d'objectiver le rôle de la cilnidipine, un inhibiteur calcique de type N et L, dans la limitation du remodelage atrial en cas de FA chronique, à l'aide d'un modèle aigu et chronique canin. Nos travaux ont caractérisé l'action anti-remodelante de la cilnidipine au niveau électrique, *via* la limitation de la diminution des PRE, de l'augmentation de la vulnérabilité atriale et de la durée de FA. D'autre part, la cilnidipine semble limiter le remodelage atrial, ce qui est objectivé par la normalisation des vitesses de conduction, de l'expression des canaux sodiques, des jonctions communicantes et de la fibrose tissulaire. La cilnidipine, contrairement aux inhibiteurs calciques de type L tels que la nifédipine, possède une activité anti-remodelante *via* la modulation de l'activité du système nerveux autonome.

Conclusion – Différents facteurs, tels que le flutter atrial, les fréquences atriales et ventriculaires en cas de FA, ont été caractérisés comme déterminants du développement

du remodelage atrial. *A contrario*, la modulation d'un des déterminants du remodelage atrial, le système nerveux autonome *via* la cilnidipine, permet de limiter le remodelage atrial secondaire à la FA. Ce travail fournit de nouvelles données sur les mécanismes impliqués dans le remodelage atrial lié à la FA et introduit de nouvelles approches préventives au développement de la FA.

Mots clés : fibrillation atriale, remodelage atrial, cardiopathie atriale, fibrose, système nerveux autonome, cardiopathie rythmique, flutter atrial.

Abstract

Rational and objective - Atrial fibrillation (AF) is the most common arrhythmia in clinical practice. Atrial remodeling, whether electrical or structural, leads to the development of atrial cardiomyopathy. The atrial cardiomyopathy results in various complications: on one hand, mechanical with an increased thromboembolic risk and heart failure, and on the other hand electrical predisposing to atrial arrhythmias including AF. The aim of the thesis was to characterize the determinants of atrial remodeling, and their proarrhythmic effect in AF.

Main results -

The *first part of the thesis* focused on the characterization of the atrial remodeling induced by sustained atrial flutter (AFL) in a chronic canine model in order to characterize the interrelationship between AF and AFL. AFL caused electrical remodeling, including increased AF vulnerability and decreased effective refractory periods (ERPs). However, failed to influence AF duration, atrial conduction velocities and fibrosis. Chronic AF in the presence of an anatomical substrate for AFL led to specific AF characteristics, in terms of cycle length and its variability. In addition, AFL ablation significantly reduced arrhythmia duration but not AF vulnerability.

The *second part of the thesis* characterized the differential role of atrial arrhythmia and ventricular response in AF-induced atrial remodeling. We characterized the atrial remodeling induced by lone atrial arrhythmia in AF, with AV-block to prevent high ventricular rate: on the one hand electrical *via* decreased ERP, reduced expression of sodium channels and gap junctions, which increased AF vulnerability; on the other hand, structural fibrosis which contributed to conduction slowing. Lone high-rate ventricular response also induced atrial remodeling involving increased AF

vulnerability, decreased atrial conduction velocities, moderate abnormalities of fibrosis and sodium channel downregulation. In addition, there was a synergistic effect on atrial remodeling of combined atrial arrhythmia and high ventricular rate, especially regarding fibrosis. Thus, atrial tachyarrhythmia and rapid ventricular response during AF produce distinct atrial remodeling; both can contribute to the arrhythmogenic substrate. These results provide new insights into the determinants of AF-related remodeling and provide novel considerations for ventricular rate-control.

The *third part of the thesis* studies the ability of cilnidipine, an N- and L-type calcium channel blocker, to alter autonomic, electrical and structural remodeling associated with chronic AF, in a subacute and chronic dog model. We found that the cilnidipine inhibits the electrophysiological, autonomic and structural consequences of AF-related remodeling and the AF-associated increase in AF-vulnerability and AF-duration; in contrast, the highly selective L-type calcium channel blocker nifedipine had no protective effects. The protective effects of cilnidipine on the remodeling consequences of short-term AF were principally manifested by reductions in AF-induced ERP-abbreviation. With longer-term AF, cilnidipine also attenuated conduction-velocity reductions, protecting against AF-induced fibrosis and downregulation of sodium-channel and connexin subunits. Cilnidipine's anti-remodeling properties were associated with suppression of the changes in autonomic tone caused by AF.

Conclusion - Thus, we have shown 1) the distinct remodeling phenotypes produced by the closely related atrial re-entrant arrhythmias AFL and AF, as well as the interaction when they co-exist; 2) the specific contributions of the atrial rhythm and ventricular rate consequences of AF and how they interact; and 3) the ability of autonomic outflow

inhibition by blocking N-type Ca^{2+} -channels to prevent both electrical and structural components of AF-induced profibrillatory remodeling. This work provides new insights into the mechanisms involved in AF-related atrial remodeling and introduces novel preventive approaches.

Keywords - atrial fibrillation, atrial remodeling, atrial cardiomyopathy, fibrosis, autonomic nervous system, arrhythmia-induced cardiomyopathy

Table des matières

Résumé.....	I
Abstract	V
Table des matières	IX
Liste des figures et des tableaux	XIII
Liste des abréviations	XVII
Remerciements.....	XXI
CHAPITRE 1 – Introduction.....	1
Partie 1 - Aperçu épidémiologique et clinique de la fibrillation atriale	3
1. Considérations épidémiologiques de la fibrillation atriale.....	3
2. Arsenal thérapeutique actuel dans la stratégie de contrôle du rythme	6
2. 1. Arsenal pharmacologique : aperçu des molécules anti-arythmiques disponibles.....	7
2. 2. Stratégie ablativ.....	9
Partie 2 - Le remodelage atrial.....	14
1. Caractéristiques du remodelage atrial	14
2. Le remodelage atrial électrique	16
3. Le remodelage atrial structurel.....	19
4. Facteurs causaux du remodelage atrial : approche mécanistique.....	22
4. 1. Rôle du stretch atrial dans le remodelage atrial	23
4. 2. Rôle des mécanismes inflammatoires dans le remodelage atrial.....	25
4. 3. Rôle du système nerveux autonome dans le remodelage atrial.....	27
5. Implications cliniques liées à la notion de remodelage atrial.....	30
Partie 3 - Interrelation entre fibrillation et flutter atrial.....	34
1. Considérations épidémiologiques de la relation entre fibrillation et flutter atrial..	35
1. 1. Interrelation entre fibrillation et flutter atrial : à propos des facteurs étiologiques....	35
1. 2. Interrelation entre fibrillation et flutter atrial : à propos de la chronologie de survenue	

1. 3.	Interrelation entre fibrillation et flutter atrial : à propos des complications	39
2.	Considérations mécanistiques de la relation entre fibrillation et flutter atrial.....	41
2. 1.	Fibrillation et flutter atrial : deux mécanismes électrophysiologiques différents.....	42
A -	Description mécanistique du flutter atrial	42
B -	Description mécanistique de la fibrillation atriale	44
2. 2.	Hypothèses des mécanismes mis en jeu dans l'interrelation entre fibrillation et flutter atrial	45
A -	La fibrillation atriale comme promoteur de flutter atrial	45
B -	Le flutter atrial comme promoteur de fibrillation atriale	47
2. 3.	Mécanistique de l'interrelation entre fibrillation et flutter atrial : apport des données cliniques.....	48
Partie 4 -	Effets de la fréquence ventriculaire sur le remodelage atrial.....	52
1.	La fibrillation atriale comme promoteur d'insuffisance cardiaque : notion de cardiopathie rythmique.....	52
1. 1.	Aspect épidémiologique.....	52
1. 2.	Aspect mécanistique	54
2.	Effets de la fréquence ventriculaire sur le remodelage atrial	55
2. 1.	Effets de la fréquence ventriculaire élevée	55
2. 2.	Effets de la fréquence ventriculaire irrégulière.....	56
3.	Effets des thérapeutiques contrôlant la fréquence ventriculaire sur le remodelage atrial	57
3. 1.	Effets des thérapeutiques pharmacologiques	57
3. 2.	Effets des thérapeutiques de stimulation ventriculaire.....	58
A -	Approche clinique	58
B -	La dissociation atrio-ventriculaire.....	59
C -	La dissociation inter-ventriculaire.....	61
Partie 5 -	Objectifs et hypothèses de la présente étude	63
CHAPITRE 2 -	Caractérisation du remodelage atrial induit par le flutter atrial	
et relation avec la fibrillation atriale.....		65

Mise en contexte.....	67
Contribution des auteurs	67
Abstract	69
Introduction	71
Methods	73
Results.....	80
Discussion	84
Conclusions	88
Acknowledgements.....	89
References	90
Figures	93

CHAPITRE 3 - Rôle différentiel de l'arythmie atriale et de la réponse

ventriculaire sur le remodelage atrial en cas de la fibrillation atriale..... 101

Mise en contexte.....	103
Contribution des auteurs	103
Abstract	105
Introduction	107
Methods	109
Results.....	115
Discussion	119
Conclusions	125
Acknowledgements.....	126
References	127
Figures	130

CHAPITRE 4 - Effet de la cilnidpine, un bloqueur calcique de type N et L, sur la modulation du remodelage atrial autonome, électrique et structurel en cas de fibrillation atriale..... 139

Mise en contexte.....	141
Contribution des auteurs	141
Abstract	143
Introduction	145
Methods	147
Results.....	153
Discussion	157
Conclusions	163
Acknowledgements	164
References	165
Table	169
Figures	170
CHAPITRE 5 - Discussion générale.....	177
1. Résumé des principales découvertes de l'étude	179
2. Cohérence externe et pertinence clinique.....	185
3. Futures directions	193
CHAPITRE 6 - Conclusion	197
BIBLIOGRAPHIE.....	201

Liste des figures et des tableaux

CHAPITRE 1

Figure 1 - 1. Prévalence de la fibrillation atriale en fonction de l'âge d'après (1)	4
Figure 1 - 2. Modèle conceptuel des facteurs impliqués dans le remodelage atrial	15
Figure 1 - 3. Éléments comparatifs du remodelage atrial électrique et structurel présent en cas de fibrillation atriale.....	16
Figure 1 - 4. Modifications des courants ioniques impliquée dans le potentiel d'action atrial	17
Figure 1 - 5. Facteurs de risque impliqués dans la fibrillation atriale et mécanismes physiopathologiques impliqués.....	23
Figure 1 - 6. Mécanismes impliqués dans le remodelage atrial secondaire au stretch atrial	25
Figure 1 - 7. Mécanismes impliqués dans le remodelage atrial secondaire au stretch atrial	29
Figure 1 - 8. Approche conceptuelle de l'interrelation entre fibrillation et flutter atrial, centré sur le remodelage atrial	41
Figure 1 - 9. Approche mécanistique de l'interrelation entre fibrillation atriale et insuffisance cardiaque.....	55
Figure 1 - 10. Approche mécanistique de l'implication de la stimulation ventriculaire comme substrat favorable à la fibrillation atriale	60

CHAPITRE 2

Figure 2 - 1. Overview of atrial flutter chronic dog model.....	93
Figure 2 - 2 Schematic of groups and interventions.	94

Figure 2 - 3. Effects of 3-week AFL and AF on in vivo electrophysiological features	94
Figure 2 - 4. Tachyarrhythmia properties after 3-week AFL and/or AF	95
Figure 2 - 5. Effects of 3-week AFL and AF on echocardiographic indices	95
Figure 2 - 6. Effects of 3-week AFL and/or AF on conduction and repolarization properties on optical mapping.....	96
Figure 2 - 7. Effects of 3-week AFL and/or AF on atrial fibrosis and the expression of collagen genes.....	97
Online Figure 2 - 1. Distinctive effects of 3-week atrial flutter and AF on AF features, before and after ablation of atrial flutter substrate compared to control and sham groups.....	98
Online Figure 2 - 2. Distinctive effects of 3-week atrial flutter and AF on connexin expression	99
Online Figure 2 - 3. Distinctive effects of 3-week atrial flutter and AF on mRNA expression of various ion channel.....	100
CHAPITRE 3	
Figure 3 - 1. Schematic of groups and interventions	130
Figure 3 - 2. Distinctive effects of lone atrial tachyarrhythmia, rapid ventricular rate and AF on AF features.....	130
Figure 3 - 3. Distinctive effects of lone atrial tachyarrhythmia, rapid ventricular rate and AF on electrocardiographic features	131

Figure 3 - 4. Distinctive effects of lone atrial tachyarrhythmia, rapid ventricular rate and AF on electrophysiological features at the endpoint ex vivo optical mapping	131
Figure 3 - 5. Distinctive effects of lone atrial tachyarrhythmia, rapid ventricular rate and AF on atrial fibrotic process.....	132
Figure 3 - 6. Distinctive effects of lone atrial tachyarrhythmia, rapid ventricular rate and AF on connexin 40 expression.....	132
Figure 3 - 7. Distinctive effects of congestive heart failure compared to atrial fibrillation on atrial and ventricular function.....	133
Figure 3 - 8. Central figure - Distinctive role of atrial arrhythmia and ventricular response in atrial fibrillation induced atrial remodeling.....	134
Online Figure 3 - 1. Ventricular rate secondary to 600bpm atrial tachypacing during the follow-up in AF without AVB-group	135
Online Figure 3 - 2. Different connexin 40 expression among the groups.....	135
Online Figure 3 - 3. Distinctive effects of lone atrial tachyarrhythmia, rapid ventricular rate and AF on mRNA expression of various ion channel	136
Online Figure 3 - 4. Distinctive effects of congestive heart failure compared to atrial fibrillation on AF features.....	136
Online Figure 3 - 5. Distinctive effects of congestive heart failure compared to atrial fibrillation on atrial function and atrial structure.....	137
Online Figure 3 - 6. Schematic of groups and interventions	137
Online Figure 3 - 7. Distinctive effects of atrio-ventricular dissociation and ventricular pacing and instrumentation without pacing compared to an acute control group	138

CHAPITRE 4

Table 4 - 1. Characteristics of dogs in various acute-AF groups.....	169
Figure 4 - 1. Schematic of groups and interventions	170
Figure 4 - 2. Effects of cilnidipine on AF features after 1-week AF	170
Figure 4 - 3. The effect of cilnidipine on heart rate variability (HRV)	171
Figure 4 - 4. The effect of cilnidipine on plasma norepinephrine concentration.....	171
Figure 4 - 5. Effects of cilnidipine on AF substrate and conduction properties after 3-week AF	172
Figure 4 - 6. The effect of cilnidipine on mRNA expression of various genes related to AF-induced conduction changes.....	172
Figure 4 - 7. The effects of cilnidipine on connexin protein expression	173
Figure 4 - 8. The effects of cilnidipine on atrial fibrosis	173
Online Figure 4 - 1. The effect of cilnidipine on heart rate variability (HRV) before and after 7-day AF	174
Online Figure 4 - 2. The effect of cilnidipine on expression of ion channel subunit and Ca ²⁺ -handling protein and ECM genes after 7 days of AF	175
Online Figure 4 - 3. The assessment of left-ventricular ejection fraction after 21 days of AF	175

Liste des abréviations

ACC	Collège américain de cardiologie
Ach	Acétylcholine
AIT	Accident ischémique transitoire
ATP	Adénosine triphosphate
AHA	Association américaine de cardiologie
ARA2	Antagonistes des récepteurs à l'angiotensine de type 2
AVC	Accident vasculaire cérébral
BPCO	Broncho-pneumopathie chronique obstructive
bpm	Battements par minute
CAMKII	Protéine kinase calcium/calmoduline-dépendante
cAMP	Adénosine monophosphate cyclique
CRP	Protéine C réactive
DPA	Durée du potentiel d'action
ECG	Électrocardiogramme
ESC	Société européenne de cardiologie
ESV	Extra-systole ventriculaire
ETO	Échocardiographie trans-œsophagienne
FA	Fibrillation atriale
FEVG	Fraction d'éjection du ventricule gauche
FLA	Flutter atrial
HTA	Hypertension artérielle
IC	Insuffisance cardiaque
ICT	Isthme cavo-tricuspidé
IEC	Inhibiteur de l'enzyme de conversion

$I_{Ca, L}$	Inhibiteur du courant calcique de type L
I_f	Courant "funny"
$I_{K, Ach}$	Courant potassique médié par l'acétylcholine
I_{Ks}	Courant potassique de type S
I_{Kur}	Courant potassique ultra-rapide
I_{K1}	Courant potassique de type 1
IL-1	Interleukine 1
IL-6	Interleukine 6
IL-6 β	Interleukine 6 β
IRM	Imagerie par résonance magnétique
I_{to}	Courant potassique to
IVP	Isolation des veines pulmonaires
NLRP3	Protéine activatrice de l'inflammasome
NFAT	Facteur nucléaire des lymphocytes T activés
NF κ B	Facteur nucléaire κ B
NYHA	Association new-yorkaise de cardiologie
OD	Oreillette droite
OG	Oreillette gauche
PA	Potentiel d'action
PKA	Protéine kinase de type A
PRE	Période réfractaire effective
SAHOS	Syndrome d'apnée-hypopnée obstructive du sommeil
SERCA2	ATPase du réticulum sarco/endoplasmique de type 2
SNA	Système nerveux autonome
SRAA	Système rénine-angiotensine-aldostérone

TGFβ1	Facteur de croissance transformant de type β1
TNF α	Facteur de nécrose tumorale
TRIN	Tachycardie par réentrée intra-nodale
VCI	Veine cave inférieure
VCS	Veine cave supérieure
VO ₂ max	Volume maximal en oxygène
VP	Veine pulmonaire

Remerciements

Au président du jury,

Monsieur le Professeur Frédéric Roche

Tu nous fais l'honneur de présider ce jury et je t'en remercie.

Ton implication dans la vie universitaire au sein de la faculté de Médecine de Saint-Étienne est un véritable moteur. J'ai pu en bénéficier à titre personnel, je n'aurais certainement pas découvert la recherche sans notre rencontre.

Au co-directeur de la thèse,

Monsieur le Professeur Antoine Da Costa

Je vous remercie d'avoir accepté et rendu possible mon parcours doctoral en recherche fondamentale.

Votre implication dans la recherche d'un laboratoire d'électrophysiologie fondamentale m'a permis de bénéficier d'une expérience incroyable au sein du laboratoire de Stanley Nattel.

Votre technicité et votre expertise en électrophysiologie clinique sont épantantes. Vous me faites l'honneur de pouvoir continuer à apprendre à vos côtés et je vous en remercie.

Aux examinateurs externes de la thèse,

Madame le Docteur Méléze Hocini

Vous nous faites l'honneur de juger ce travail.

Nous vous remercions d'avoir accepté l'invitation à intégrer le jury. Votre implication en électrophysiologie clinique et en recherche clinique et translationnelle au sein de l'école bordelaise permet son rayonnement international.

Monsieur le Professeur Jean-Luc Pasquié

Vous nous faites l'honneur de juger ce travail.

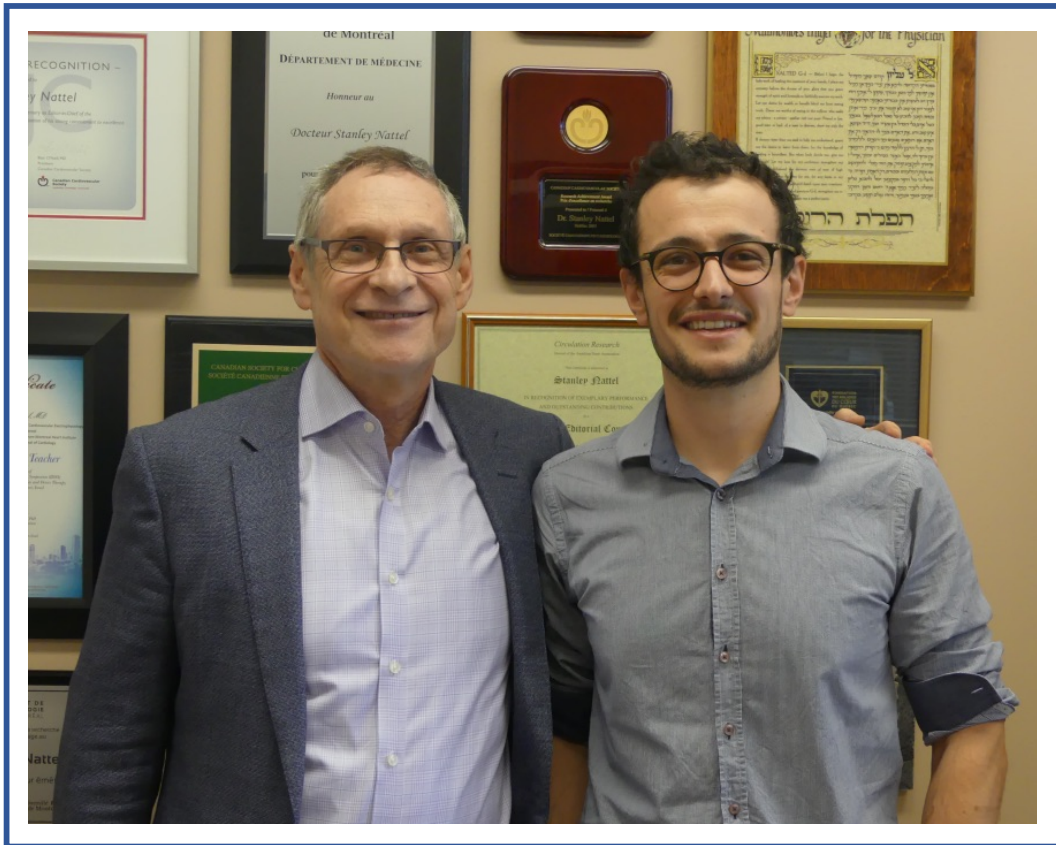
Nous vous remercions d'avoir accepté l'invitation à intégrer le jury. Votre accessibilité et votre gentillesse sont à la hauteur de votre expertise en électrophysiologie.

Au membre du jury,

Monsieur le Professeur Philippe Chevalier

Vous nous faites l'honneur de juger ce travail.

Nous vous remercions d'avoir accepté l'invitation à intégrer le jury. Votre présence au sein du jury est un exemple probant que la rivalité entre Saint-Étienne et Lyon n'est qu'une tradition bienveillante.



Doctor Nattel,

I want to thank you sincerely for the two years I spent in your lab. This experience will be unforgettable, both professionally and personally. I will not forget your simplicity, your openness to others, your intelligence, and your kindness.

Your expertise and background in basic research in the field of atrial fibrillation is impressive. Working with you has been a huge opportunity and honour.

You are one of those people who make others better. You are an example to follow and I am honored to have you as my mentor.

I could not thank you enough.

CHAPITRE 1 – Introduction

Partie 1 - Aperçu épidémiologique et clinique de la fibrillation atriale

1. Considérations épidémiologiques de la fibrillation atriale

La fibrillation atriale (FA) est la principale arythmie supraventriculaire. La prévalence actuelle dans la population générale est estimée à plus de 2% (1, 2). Cependant, les données épidémiologiques concernant la FA sont certainement sous-estimées car cette pathologie rythmique est asymptomatique dans un tiers des cas (3, 4), rendant sa mise en évidence tributaire des modalités et de la fréquence de dépistage. De plus, le caractère fréquemment paroxystique de cette tachycardie est un facteur de sous-estimation, d'autant plus que les premières études épidémiologiques concernant la FA ne prenaient en compte que les FA persistantes et permanentes, ne prenant donc pas en compte les formes paroxystiques (1). La prévalence de la FA a augmenté ces trois dernières décennies de 5% par an dans les pays industrialisés (2). Cette augmentation est plurifactorielle : d'une part l'amélioration de la prise en charge thérapeutique de la FA et de ses facteurs de risque n'a pas significativement évolué sur cette période (2). D'autre part, l'âge étant un facteur indépendamment associé au développement de la FA, le vieillissement de la population dans les pays occidentaux est le facteur explicatif principal de l'augmentation de la prévalence. Ainsi, la prévalence de la FA est inférieure à 1% dans la population générale âgée de moins de 50 ans mais dépasse les 15% au-delà de 80 ans (5) (**Figure 1 - 1**). Il existe donc une augmentation du risque de développer au cours de la vie du patient une FA (6, 7), celui-ci étant actuellement estimé à 25% (8). À l'échelle européenne, il est estimé que la prévalence doublera dans le prochain demi-siècle pour atteindre 3% en 2060 avec 18 millions de patients (1).

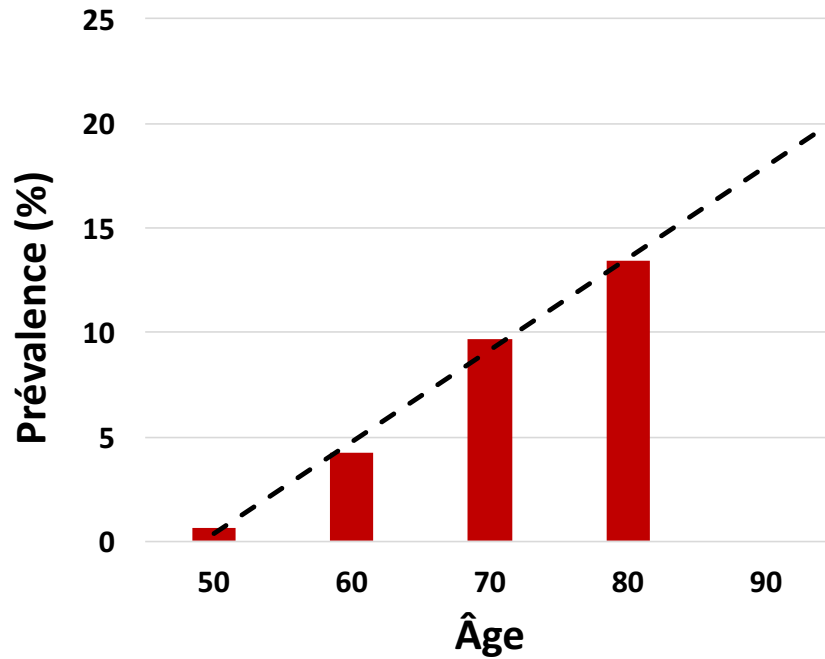


Figure 1 - 1. Prévalence de la fibrillation atriale en fonction de l'âge d'après (1)

La FA n'est pas une maladie rythmique homogène. Il a été classiquement utilisé une classification basée sur la présentation temporelle de la FA différenciant la FA paroxystique, la FA persistante et la FA permanente (9). La progression de la FA d'une présentation paroxystique à une forme persistante ou permanente a une incidence de 7% par an (10). Plusieurs éléments cliniques prédictifs de l'évolution à une forme non paroxystique ont été mis en évidence tels que l'hypertension artérielle (HTA) (10), l'âge, l'insuffisance cardiaque (IC) et la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO) (11). Il existe une augmentation de la morbidité et de la mortalité lorsque la FA se présente sous une autre forme que la forme paroxystique : il existe une augmentation indépendante de la mortalité cardio-vasculaire et totale (12), du risque thrombo-embolique et de saignements (13) mais aussi une difficulté de la prise en charge thérapeutique avec l'augmentation significative des récurrences rythmiques supra-ventriculaires après ablation endocavitaire (14).

La FA est un problème de santé publique majeur du fait de l'augmentation induite de la morbi-mortalité. Ainsi, la FA est responsable d'une augmentation du risque thrombo-embolique, notamment d'accident vasculaire cérébral (AVC) par un facteur 5 (4, 15, 16). 20% des AVC sont d'origine cardio-embolique secondairement à une FA, ce qui en fait la première étiologie (17). Des scores cliniques avec une forte capacité prédictive du risque thromboembolique (18), notamment le score de CHA₂DS₂-VASc (19), permettent ainsi de prévenir la survenue d'AVC, en guidant la mise en place d'une thérapeutique antithrombotique notamment (9). La FA est également associée à une augmentation de la survenue d'IC et de ses hospitalisations consécutives, notamment *via* la mise en place d'une cardiomyopathie rythmique (20). Ainsi la FA est associée avec une augmentation des hospitalisations pour insuffisance cardiaque après un an de suivi et au long cours. L'association entre la FA et l'augmentation de la mortalité est pour sa part sujette à débat. En effet, toute augmentation des comorbidités secondaires à la FA, que ce soit les AVC (21), l'insuffisance cardiaque (22), ou les troubles cognitifs est associée à une augmentation de la mortalité. Alors que certaines études établissent une augmentation de la mortalité associée à la FA (23), d'autres suggèrent que l'augmentation de la mortalité dans la population atteinte de FA, bien que de près de 40%, est plutôt liée à l'augmentation de la prévalence des facteurs de risque de FA, et plus largement des facteurs de risque cardio-vasculaires, que de la FA elle-même (2). L'absence d'augmentation de la mortalité ces dernières décennies, malgré l'augmentation importante de la FA, et ce en l'absence d'efficacité des thérapeutiques médicamenteuses (24) et interventionnelles (25) mises en œuvre dans la FA au point de vue de la mortalité, appuie l'absence d'association forte entre FA et augmentation de la mortalité. La mise en évidence de l'association entre FA et atteinte des fonctions cérébrales supérieures est plus récente.

Plusieurs études semblent indiquer, de manière cohérente, une association entre FA et déclin cognitif évalué à l'aide du Mini Mental Score (26), mais aussi démence (27), perte d'autonomie et hospitalisation en unité de soins de longue durée (28). Les mécanismes physiopathologiques ne sont cependant pas clairement identifiés : des mécanismes micro-thromboemboliques (29), inflammatoires et d'hypoperfusion cérébrale (30) sont avancés. La FA émaille également la qualité de vie, évaluée notamment à l'aide d'échelles de fonctions physiques, mentales et générales (31). La FA est également associée à une diminution des performances physiques (32).

L'ensemble de ces comorbidités inhérentes à la FA entraîne un surcoût et donc une problématique forte de santé publique : le coût propre de la FA en Europe est estimé à 10 000 € par an, principalement par le biais de l'augmentation des hospitalisations, et de façon plus anecdotique par les soins primaires et les thérapeutiques médicamenteuses (33).

2. Arsenal thérapeutique actuel dans la stratégie de contrôle du rythme

La prise en charge thérapeutique de la FA repose sur une triade : prévention du risque thrombo-embolique, contrôle du rythme *via* la restauration et/ou le maintien d'un rythme sinusal et régulier ou le contrôle de la fréquence ventriculaire. L'axe thérapeutique de prévention du risque thrombo-embolique est le seul à avoir montré un bénéfice clinique en terme de morbi-mortalité, notamment en maîtrisant la survenue d'AVC (9, 34–36). Afin de mettre en perspective la FA et le remodelage atrial, seule la stratégie de contrôle du rythme atrial sera abordée dans cette partie.

2. 1. Arsenal pharmacologique : aperçu des molécules anti-arythmiques disponibles

Les guides de bonnes pratiques proposés par les sociétés savantes européennes (9) et nord-américaines (36) recommandent avec un grade élevé et un haut niveau de preuve scientifique l'utilisation de cinq molécules anti-arythmiques afin de prévenir les accès de FA et maintenir un rythme sinusal : la flécaïnide, le propafénone, le sotalol, la dronédarone et l'amiodarone. L'ensemble de ces molécules font parties des classes I et III de la classification de Vaughan-Williams, les molécules de ces deux classes ayant des propriétés anti-arythmiques spécifiques au niveau des cardiomyocytes constituant les cavités atriales et ventriculaires, et non au niveau des tissus de conduction intracardiaques au niveau desquels les molécules anti-arythmiques issues des classes II et IV sont efficaces.

La flécaïnide et le propafénone sont des agents de la classe Ic selon la classification de Vaughan-Williams : il s'agit donc d'inhibiteurs des canaux sodiques avec une très haute affinité pour ceux-ci avec une fonction de bloqueur des canaux potassiques modérée. Ces molécules entraînant une diminution des vitesses de conduction au niveau des cavités ventriculaires, elles sont contre-indiquées en cas de diminution de la fonction systolique ventriculaire gauche et en cas de cardiomyopathie ischémique du fait d'un effet potentiel pro-arythmique ventriculaire (37). L'effet sur la durée du potentiel d'action (DPA) du blocage des canaux potassiques étant contrebalancé par le blocage des canaux sodiques, il n'existe pas de risque de torsades de pointe avec ces molécules.

Le sotalol est une molécule bêtabloquante possédant une forte affinité pour les canaux potassiques. Il possède donc à l'étage atrial une action anti-arythmique du fait d'une augmentation de la DPA et donc de la période réfractaire effective (PRE). Le

sotalol augmente dans le même temps la DPA à l'étage ventriculaire, s'exprimant cliniquement par un allongement de l'intervalle QT sur l'électrocardiogramme (ECG) de surface, avec un risque de torsade de pointes estimé à 2.5% par an (38).

L'amiodarone est une molécule classée dans le groupe III de la classification de Vaughan-Williams, bien que cette molécule possède également des effets électrophysiologiques cellulaires de type I, II et IV (39). Cette molécule possède l'action anti-arythmique la plus efficace dans le cadre de la FA parmi l'arsenal thérapeutique disponible (40). Les effets indésirables extracardiaques de l'amiodarone lors de son administration au long cours, notamment au niveau des dysthyroïdies et de la fibrose pulmonaire, réduisent cependant son bénéfice clinique net.

La dronédarone possède les mêmes propriétés électrophysiologiques que l'amiodarone, bien que moins efficace, sans les effets indésirables extracardiaques (41). Les patients ayant présenté une décompensation cardiaque récente (42), et ceux avec une FA persistante présentent cependant une surmortalité (43) ce qui réduit considérablement le spectre d'indication de la dronédarone en cas de FA.

Au regard des caractéristiques des molécules présentées précédemment, le bénéfice clinique net des agents anti-arythmiques n'est pas clairement identifié.

Sur le plan de l'efficacité, les agents anti-arythmiques permettent de doubler la durée en rythme sinusal, sans toutefois supprimer totalement les accès de FA (44). Cette méta-analyse permet donc d'identifier l'efficacité des agents des classes Ic et III en cas de FA avec une supériorité plus importante de l'amiodarone par rapport aux autres molécules.

Sur le plan de la tolérance, la méta-analyse identifie un effet pro-arythmique des agents de la classe Ic et du sotalol, une surmortalité parmi les patients bénéficiant d'un

traitement par sotalol et les molécules de la classe Ia, et la présence d'effets indésirables non létaux secondaires à l'administration de l'amiodarone, du sotalol et des agents de la classe Ic.

Plusieurs arguments appuient la thèse que la stratégie de contrôle du rythme ne possède pas un bénéfice clinique net favorable de manière évidente. D'une part, l'ensemble des essais cliniques réalisés ne met pas en évidence de bénéfice de cette stratégie en terme de mortalité toute cause, de mortalité cardio-vasculaire et sur les AVC (45). D'autre part, la stratégie de contrôle du rythme ne montre pas de supériorité par rapport à la stratégie de contrôle de la fréquence, que ce soit dans une population de patients présentant une IC (46), en l'absence d'IC (24) et en cas de FA persistante (47). Dans ce contexte, la société européenne de cardiologie (ESC) souligne l'efficacité modeste de la stratégie anti-arythmique pharmacologique dans la FA, et propose de prendre en compte de manière extrêmement rigoureuse la sécurité et la tolérance de l'agent anti-arythmique envisagé selon le terrain et les spécificités de chaque patient (9).

2. 2. Stratégie ablative

La stratégie de contrôle du rythme de manière interventionnelle a été développée au début des années 2000, après que des zones gâchettes arythmogéniques n'aient été mises en évidence au niveau des veines pulmonaires (VP) (48). L'isolement des VP (IVP) par radiofréquence a ainsi été développée, permettant d'établir une séparation complète entre les zones avec une activité rythmique ectopique au niveau des quatre VP et les cavités atriales droites et gauches. Cette technique interventionnelle, non chirurgicale, ne nécessite pas systématiquement d'anesthésie générale. Elle consiste en un accès atrial gauche par abord veineux fémoral puis

transseptal, sous anticoagulation curative et après vérification de l'absence de processus thrombotique intra-atrial et intra-auriculaire gauche par échocardiographie transœsophagienne (ETO). Une déconnexion électrique des quatre VP est alors réalisée par un cathéter de radiofréquence à l'aide d'un guidage anatomique *via* fluoroscopie et électrophysiologique *via* un cathéter diagnostique (9).

Dans un second temps, l'IVP par cryoablation a été développé. Cette technique possède les mêmes caractéristiques que l'ablation par radiofréquence à la différence de la modalité ablative, utilisant un ballon de cryoablation à la place d'un cathéter de radiofréquence, placé au niveau de l'ostium des veines pulmonaires par guidage fluoroscopique seul (9).

L'ablation per-chirurgicale de FA au cours d'une procédure de chirurgie de revascularisation cardiaque ou valvulaire a été proposée dès 1987 (49). Une compartimentation électrique bi-atriale est alors proposée en créant chirurgicalement différentes lignes de bloc de conduction : isolement de la partie postérieure de l'oreillette gauche, de l'isthme mitral et isolation de l'auricule gauche au niveau de l'oreillette gauche, ligne de bloc de conduction inter-cavale et au niveau de l'isthme cavo-tricuspidé au niveau de l'oreillette droite, créant ainsi un labyrinthe (« maze ») conducteur intra-atrial et jouant un rôle anti-arythmique. Des améliorations techniques ont été apportées par rapport à la technique initiale, utilisant différents moyens ablatifs, uni ou bipolaires, avec utilisation de radiofréquence ou de cryoénergie (50). Plus récemment, des techniques ablatives par mini-thoracotomie sans chirurgie cardiaque concomitante ont été développées, mettant en évidence des résultats similaires en terme d'efficacité à l'ablation endocavitaire de la FA (51).

L'ensemble des options ablatives de la FA permettent d'augmenter la durée de suivi sans FA et la charge en FA. Ainsi, l'ablation par radiofréquence de la FA augmente la survie sans récurrence de FA après 2ans de suivi pour 54% des patients ayant bénéficié d'une procédure ablatrice (13). Le pourcentage augmente à 80% pour les patients ayant bénéficié de plusieurs procédures, avec une moyenne du nombre d'interventions de 1.51, attestant de l'utilité des procédures multiples en cas de stratégie ablatrice. L'ablation endocavitaire par cryoablation semble apporter une efficacité comparable à la procédure utilisant un cathéter de radiofréquence (52, 53). La chirurgie « maze » semble également apporter des résultats comparables en terme de diminution de la récurrence de FA (54). Force est de constater que l'ensemble des techniques ablatrices, bien que diminuant significativement la charge en FA, ne permet pas d'éliminer la pathologie rythmique atriale.

Cependant, les différentes techniques ablatrices possèdent des limites non négligeables. Premièrement, il s'agit d'une stratégie invasive qui comporte des effets indésirables à court et à long terme non négligeables. Bien que la mortalité per procédurale soit extrêmement faible (55), il existe un risque significatif de tamponnade, d'évènements thrombo-emboliques, de sténose des VP et de fistule œsophago-atriale (56), conduisant les sociétés savantes à recommander la réalisation des procédures d'ablation de FA dans des centres possédant une expertise significative (9). De façon similaire, la chirurgie « maze » est confrontée à des effets indésirables tels que l'existence de troubles de conduction additionnels nécessitant la mise en place d'un stimulateur cardiaque définitif (54). Deuxièmement, bien que la procédure soit codifiée lors de l'ablation de FA paroxystique, en réalisant un isolement complète des quatre VP (57), les mécanismes électrophysiologiques plus diverses et complexes en cas de FA persistante, rendent la technique ablatrice ainsi que ses résultats au long cours plus

incertains. En effet, il existe un substrat atrial en cas de FA persistante, en sus des gâchettes arythmogéniques au niveau des VP, à l'origine de stratégies ablatives supplémentaires intra-atriales. Ainsi, l'ablation additionnelle des zones comportant des potentiels fragmentés, ou la réalisation de lignes de bloc de conduction supplémentaires au niveau du toit de l'oreillette gauche (OG) et de l'isthme mitrale ont été proposées (58), mais ne permettent pas d'améliorer l'efficacité de l'ablation de FA lorsqu'elle est persistante. De plus, il est intéressant de noter que l'ablation de FA persistante présente des résultats au long cours en terme de récurrence de FA inférieurs, comparativement à la FA paroxystique (13) quelle que soit la technique employée. Troisièmement, en dépit d'une baisse significative de la charge de FA après une technique ablatrice, il n'existe pas à ce jour de données confirmant le bénéfice de la stratégie ablatrice par rapport à des critères cliniques forts tels que la mortalité et la survenue de FA. Ainsi, l'étude CABANA n'a pas permis de mettre en évidence de supériorité de la stratégie invasive par rapport à la stratégie pharmacologique lors de l'analyse en intention de traiter sur le critère de jugement composite principal regroupant la mortalité toute cause, les AVC, les hémorragies majeures et les arrêts cardiaques (25).

Ainsi, devant sa balance bénéfice-risque non clairement établie, l'ablation endocavitaire de FA n'est recommandée par l'ESC avec un grade de recommandation élevé uniquement pour les patients avec une FA paroxystique, symptomatique, ayant déjà bénéficié d'un traitement pharmacologique anti-arythmique, et préférant une stratégie de contrôle du rythme, si le geste est réalisé dans un centre expert (9).

L'arsenal thérapeutique actuel visant à contrôler le rythme des patients en cas de FA possède donc des limitations substantielles, ne permettant pas la disparition de la maladie rythmique atriale. Les récurrences de FA sont donc fréquentes et l'évolution

d'une forme paroxystique en forme persistante est classique, entraînant des modifications au niveau des cavités atriales, regroupées sous la dénomination de remodelage atrial.

Partie 2 - Le remodelage atrial

La FA peut constituer une maladie primitive dans une faible minorité des cas : elle consiste alors fréquemment en une maladie ectopique des VP d'origine multigénique (59). Mais cette arythmie est majoritairement consécutive à la présence d'un remodelage atrial. En effet, l'histoire naturelle de la FA est étroitement liée à la présence et à la sévérité du remodelage atrial (60) : la FA paroxystique laisse place à la FA persistante lorsque le remodelage des cavités atriales devient plus important. Lorsque le remodelage auriculaire devient plus sévère, la FA est le plus souvent au stade d'arythmie permanente. Le remodelage atrial est donc au cœur de la physiopathologie des arythmies atriales (61). Le remodelage atrial est communément divisé en deux entités distinctes : le remodelage électrophysiologique et le remodelage structurel. L'établissement et la progression du remodelage atrial sont polyfactoriels : les mécanismes impliqués seront développés dans cette partie.

1. Caractéristiques du remodelage atrial

Le remodelage atrial, qu'il soit structurel ou électrique, est majoritairement asymptomatique. En effet, les altérations structurelles et fonctionnelles des oreillettes créant un substrat pour la survenue et le maintien des arythmies atriales n'est que rarement symptomatique (62), ne rendant sa mise en évidence possible que par dépistage. Cette caractéristique est notable, permettant de différencier la présentation clinique des cardiomyopathies atriales d'une part ; et ventriculaires d'autre part. En effet, même si le remodelage de ces deux cavités comporte certains mécanismes communs, notamment la présence d'un processus fibrotique, l'insuffisance cardiaque

liée au remodelage ventriculaire présente la particularité de provoquer un phénotype clinique marqué (63).

Le remodelage atrial est la pierre d'angle de l'initiation et du maintien de la FA. Son origine est plurifactorielle, il est possible de la subdiviser conceptuellement en trois types (60) : l'âge, les anomalies structurelles cardiaques et leurs facteurs de risque cardio-vasculaires associés ainsi que la FA elle-même (**Figure 1 - 2**).

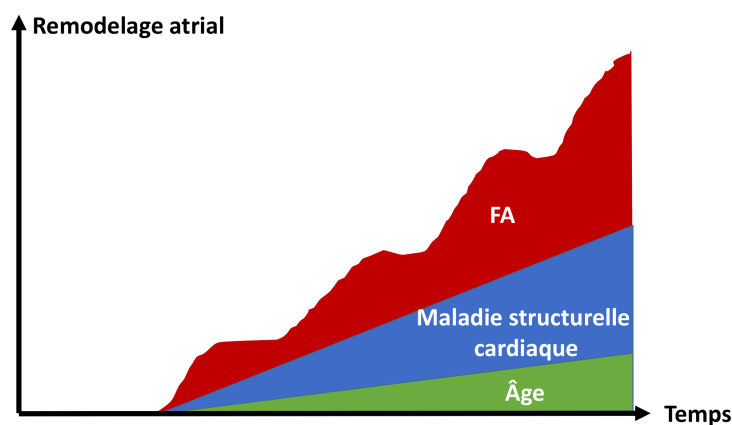


Figure 1 - 2. Modèle conceptuel des facteurs impliqués dans le remodelage atrial

Premièrement, le remodelage atrial consécutif à l'âge se développe indépendamment de la FA et des autres facteurs de risque cardio-vasculaires par un processus fibrotique principalement, et plus rarement par dépôt amyloïde secondaire à une amylose atriale sénile isolée (64). Deuxièmement, les anomalies structurelles cardiaques sont un facteur étiologique majeur du développement de la cardiomyopathie atriale : les valvulopathies mitrales, la cardiopathie hypertensive, l'insuffisance cardiaque avec ou sans altération de la fonction systolique ventriculaire et la cardiopathie ischémique entraînent un remodelage des cavités atriales par différents mécanismes tels que le stretch atrial, la modulation du système nerveux autonome (SNA) ou l'intervention de mécanismes neuro-hormonaux et inflammatoires (65). Enfin, la FA provoque par elle-même un remodelage atrial. Ce concept, présenté

initialement par Wijffels *et al.* en 1995, intègre le remodelage atrial et la FA dans un cercle vicieux (66) : la FA provoque un remodelage atrial, qui est un substrat à la progression de la maladie rythmique atriale.

2. Le remodelage atrial électrique

Le remodelage électrique se réfère à tout changement des fonctions électriques établissant un substrat à la survenue et au maintien de la FA. Il peut être subdivisé en trois entités : la modification des propriétés du potentiel d'action (PA), la modification du métabolisme calcique intra-cellulaire et la modification des propriétés du courant sodique (**Figure 1 - 3**).

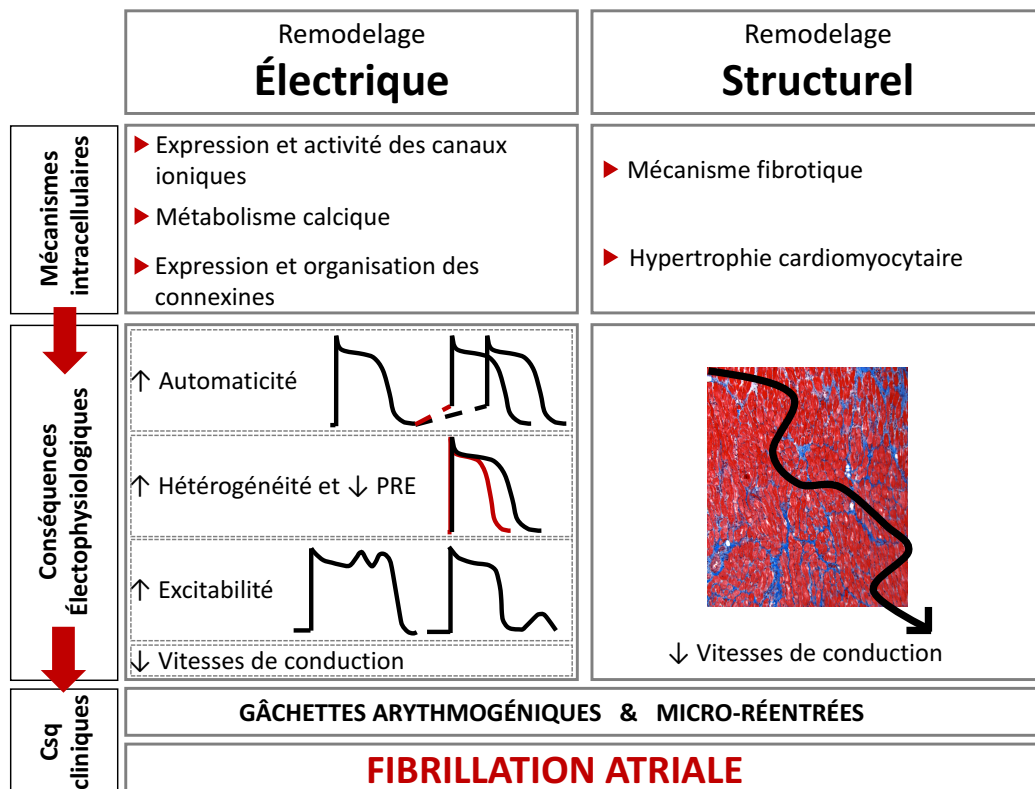


Figure 1 - 3. Éléments comparatifs du remodelage atrial électrique et structurel présent en cas de fibrillation atriale

D'une part, le remodelage électrique présent en cas de FA porte sur la modification des propriétés du PA des cardiomyocytes atriaux, et donc de leur PRE en reposant sur un trépied : 1) une diminution de la DPA, 2) une diminution de l'adaptation de la DPA et 3) une hétérogénéité des DPA au sein des cavités atriales (67). Ces trois anomalies du PA résultent des modifications de l'expression et de l'activité des canaux ioniques membranaires au cours de la FA (**Figure 1 - 4**).

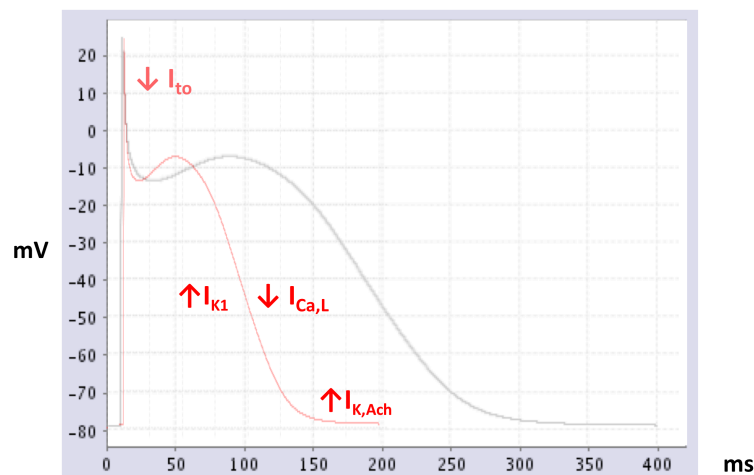


Figure 1 - 4. Modifications des courants ioniques impliquée dans le potentiel d'action atrial

Bien que les anomalies de l'expression et de la fonction des canaux ioniques restent imparfaitement connues, il est possible de souligner les principales anomalies impliquées. Les modifications majeures sont présentes au niveau des canaux ioniques responsables de la phase 2 et de la phase 3 du PA : l'amplitude du courant dépolarisant calcique de type L ($I_{Ca,L}$) est fortement diminuée (68, 69) alors que l'amplitude du courant potassique repolarisant I_{K1} est doublée (69, 70). La résultante de ces deux courants est donc une repolarisation précoce, induisant une diminution de la DPA et des périodes réfractaires. L'implication de la diminution du courant repolarisant potassique précoce I_{to} et les variations inconstantes du courant potassique ultra-rapide I_{Kur} demeurent incertaines (69, 71). Le courant potassique $I_{K,Ach}$ est activé par la

libération d'acétylcholine (ACh), activant le récepteur à l'ACh de type muscarinique M. L'activation du canal potassique médié par le récepteur à l'ACh de type muscarinique semble être diminuée en cas de FA du fait de la tachycardie (72). Cependant, des données récentes indiquent que le courant $I_{K,ACh}$ peut être augmenté *via* des mécanismes muscarinique-indépendants en cas de tachycardie, suggérant l'importance de ce courant en cas de FA (73). L'innervation autonome des oreillettes étant hétérogène, l'intensité du courant potassique médié par l'acétylcholine l'est également, pouvant expliquer l'hétérogénéité de la diminution des DPA au sein des cavités atriales.

Il est à noter que le substrat à la FA relatif au remodelage électrique est différent en fonction du facteur causal en présence. Ainsi, la DPA atriale est diminuée en cas de FA mais augmentée en cas d'infarctus du myocarde (IDM) et d'IC (74). Cette différence est expliquée en partie par une surexpression du canal responsable du courant I_{K1} en cas de FA, alors que celui-ci est sous-exprimé dans les deux autres situations cliniques.

D'autre part, le métabolisme calcique est modifié en cas de FA, faisant partie intégrante du remodelage électrique (75).

En effet, la tachycardie atriale induit, *via* l'augmentation du tonus sympathique, une hyperphosphorylation des protéines de transport calcique entraînant une surcharge calcique cytosolique (76). La surcharge calcique cytosolique est à l'origine d'activités ectopiques focales par le biais de gâchettes arythmogéniques (77). En effet, une concentration calcique cytosolique élevée est impliquée dans les mécanismes de post-dépolarisation précoce, survenant lors de la phase 2 et 3 du PA et de post-dépolarisation tardive, au cours de la phase 4 du PA. Ces activités ectopiques focales sont impliquées dans la survenue et le maintien de la FA. D'un autre côté, la surcharge calcique

cytosolique est à l'origine d'un remodelage ionique atrial afin de contrecarrer la surcharge calcique en diminuant l'expression et l'activité des canaux ioniques responsables du courant potassique de type 1 I_{K1} , du courant potassique médié par l'Ach $I_{K,Ach}$ et du courant calcique de type L $I_{Ca,L}$ (78). Ce remodelage au niveau des canaux ioniques entraîne alors une diminution de la concentration calcique cytosolique.

Enfin, les modifications des caractéristiques du courant sodique en cas de FA sont un sujet de controverse : en effet, la diminution du courant sodique, conduisant à une diminution des vitesses de conduction, est inconstamment retrouvée(69, 79). Son implication dans le remodelage électrique atrial n'est donc qu'hypothétique.

3. Le remodelage atrial structurel

Le remodelage structurel se réfère à tout changement de la structure tissulaire atriale établissant un substrat à la survenue et au maintien de la FA. Il peut être subdivisé en trois entités : la fibrose atriale, l'altération structurelle des jonctions communicantes inter-cellulaires et l'augmentation de la taille des cavités atriales (**Figure 3**).

Tout d'abord, la fibrose atriale joue un rôle majeur dans la mise en place d'un remodelage structurel constituant un substrat aux arythmies atriales (80). Cliniquement, fibrose atriale et FA présentent une association forte (81). Deux groupes de processus fibrotique coexistent : d'une part la fibrose de remplacement à la suite d'apoptose et de nécrose cardiomyocytaire, d'autre part la fibrose réactionnelle secondaire à un processus inflammatoire. La fibrose atriale constitue un substrat aux arythmies du fait de sa topographie : la matrice extracellulaire est située dans l'espace inter-cardiomyocytaire créant une barrière à la propagation de l'influx électrique (82). Le

couplage électrique inter-cellulaire est donc altéré par des zones intercalaires fibrotiques. Le mécanisme fibrotique est alors responsable d'une diminution de la vitesse de conduction ainsi qu'à une hétérogénéité de celle-ci au sein des cavités atriales (83). Par conséquent, la fibrose constitue un substrat aux arythmies en créant une susceptibilité à l'induction et au maintien des circuits de micro-réentrée. Plusieurs facteurs sont à l'origine du développement de la fibrose en cas de FA : le stretch atrial, l'apoptose et la mort cellulaire (84), l'IC ainsi que la FA elle-même. Ces conditions entraînent une augmentation de la production d'angiotensine II et de facteur de croissance transformant de type $\beta 1$ (TGF $\beta 1$) par les cardiomyocytes atriaux (85). Ces deux molécules ont une action paracrine sur les fibroblastes atriaux en induisant la production des protéines constituant la matrice extracellulaire, dont le collagène (80). Cardiomyocytes et fibroblastes atriaux sont donc impliqués en tandem dans le processus fibrotique (86).

Ensuite, les anomalies au sein des jonctions communicantes jouent un rôle important dans l'altération du couplage inter-cellulaire en cas de FA. Les jonctions communicantes sont des jonctions entre deux cardiomyocytes adjacents : elles jouent donc un rôle central dans le couplage électrique (87). D'un point de vue structurel, les jonctions communicantes sont composées par un assemblage hexamérique circulaire au niveau de la membrane cardiomyocytaire de deux cellules contigües. Les protéines composant les jonctions communicantes sont appelées connexines. Au niveau de l'étage atrial, les connexines 40 et 43 coexistent. La diminution de l'expression des connexines en cas des FA au sein des cardiomyocytes atriaux n'est pas solidement établie (88). Par contre, de nombreux arguments soutiennent la présence d'une altération de la fonction des jonctions communicantes : d'une part, les connexines

présentent une diminution de leur phosphorylation, d'autre part les connexines subissent une désorganisation topographique *via* un repositionnement des jonctions communicantes sur la paroi latérale des cardiomyocytes. La diminution de l'expression, la diminution de la fonction et la latéralisation des jonctions communicantes ont deux conséquences électrophysiologiques distinctes : elles entraînent une hétérogénéité des durées des PRE ainsi qu'une diminution des vitesses de conduction (89). Ces anomalies électrophysiologiques constituent un substrat permettant l'induction et le maintien des circuits de micro-réentrée.

Enfin, la dilatation atriale peut être considérée comme un facteur indépendant de remodelage structurel (90). En effet, l'augmentation de la surface des cavités atriales est à l'origine d'une augmentation de l'hétérogénéité des PRE et des vitesses de conduction, constituant un substrat aux arythmies atriales. Ces anomalies ont été remarquées expérimentalement en l'absence de fibrose et d'anomalies au niveau des jonctions communicantes.

Il est important de souligner que la dichotomie entre remodelage électrique et structurel, bien qu'utile au point de vue didactique, peut paraître cependant arbitraire. En effet, remodelages électriques et structurels sont étroitement liés et partagent des mécanismes d'action communs. Par exemple, les troubles du métabolisme calcique ont un rôle dans les deux types de remodelage impliqués en cas de FA. En effet, comme expliqué précédemment, les anomalies du métabolisme calcique jouent un rôle primordial dans le remodelage électrique. Mais la surcharge cytosolique calcique joue également un rôle dans l'activation du processus fibrotique au niveau des fibroblastes (91) par l'activation de facteurs de transcription pro-fibrotiques.

Classiquement, la chronologie de la survenue des remodelages électriques et structurels est jugée comme différente. En effet, le remodelage électrique est considéré comme survenant rapidement après la survenue de FA, mais de nombreuses preuves cliniques indiquent la réversibilité de celui-ci (67). D'un autre côté, le remodelage structurel survient probablement plus tardivement au cours des tachycardies supraventriculaires et peu d'arguments solides et cohérents tendent à prouver sa réversibilité (67).

4. Facteurs causaux du remodelage atrial : approche mécanistique

L'étiologie de la FA est multifactorielle. Plusieurs facteurs de risques ont été identifiés de longue date par rapport à la maladie rythmique atriale tel que le diabète, l'HTA, l'IC, l'ischémie et la maladie coronaire et les valvulopathies (92). D'autres facteurs de risques de FA ont été mis en évidence par la suite. D'une part, certains facteurs de risque jouent un rôle pro-arythmique à court terme tels que les désordres hydro-électrolytiques, que ce soit les dyskaliémies (93) ou les dysmagnésémies (94), le rythme circadien (95) ou différentes hormones telles que l'imprégnation en œstrogène chez la femme (96). D'autre part, des facteurs de risque agissant sur un mode chronique ont été retrouvés tels que le reflux gastro-œsophagien (97), le syndrome d'apnée-hypopnée obstructif du sommeil (SAHOS) (98) et l'effet propre du vieillissement (99).

Cependant, ces différents facteurs de risque épidémiologiques de FA partagent des mécanismes d'action communs, permettant de les relier au remodelage atrial aboutissant *in fine* à la maladie fibrillatoire atriale. Trois principaux mécanismes responsables du remodelage atrial sont présentés dans cette prochaine partie : les mécanismes de stretch atrial, l'inflammation, et la dysrégulation du SNA (**Figure 1 -**

5).

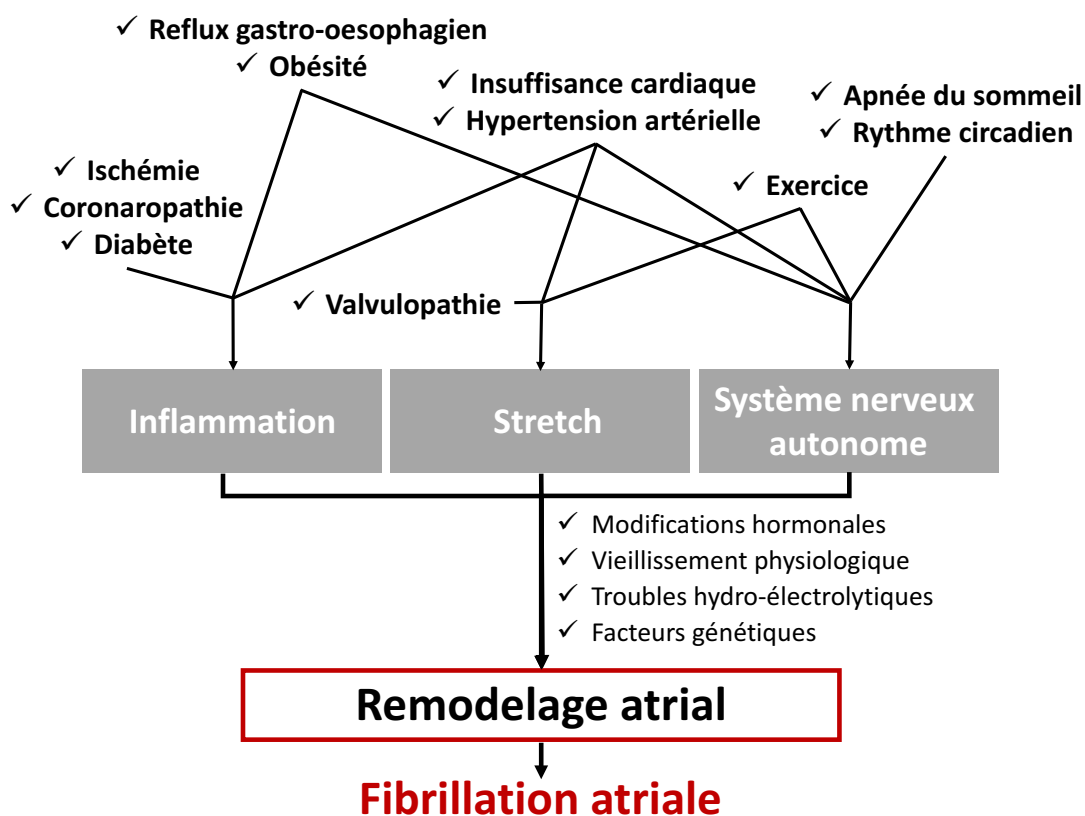


Figure 1 - 5. Facteurs de risque impliqués dans la fibrillation atriale et mécanismes physiopathologiques impliqués

4. 1. Rôle du stretch atrial dans le remodelage atrial

La surcharge volumique et barométrique des oreillettes est responsable d'un étirement des parois appelé stretch atrial (**Figure 1 - 6**). Plusieurs pathologies cardiaques peuvent en être à l'origine telles que l'HTA, la dysfonction ventriculaire gauche, les valvulopathies mitrales que ce soit un rétrécissement ou une incontinence valvulaire, et une activité physique intensive. Bien que l'association épidémiologique entre les pathologies induisant un stretch atrial et FA soit établie (92), il demeure difficile d'étudier les mécanismes mis en jeu lors de la présence d'un stretch atrial provoquant un remodelage atrial car la plupart des modèles *in vivo* entraînant un stretch

atrial mettent en jeu d'autres mécanismes, tels que la surcharge ventriculaire gauche (100). La surcharge volumétrique et barométrique atriale induit au niveau cellulaire un stress mécanique au niveau membranaire et sarcomérique, responsable d'un remodelage atrial électrique et structurel (101). Concernant le remodelage électrique, il existe un effet du stretch atrial sur l'augmentation de la vulnérabilité atriale (102). Une altération du métabolisme calcique intracellulaire est présente en cas de stretch *in vitro* de cardiomyocytes atriaux, entraînant une augmentation de la concentration intracellulaire calcique (103). Le stretch atrial semble d'autre part jouer un rôle significatif dans le développement d'un remodelage structurel. Il est à noter que la plupart des études *in vitro* précisant les mécanismes impliqués dans le remodelage structurel induit par le stretch ont été réalisées au niveau ventriculaire, leur extrapolation au niveau atrial doit donc être prudente. L'augmentation du calcium intra-cellulaire en cas de stretch atrial active le système Calcineurine-Calmoduline-Facteur nucléaires des lymphocytes T activés (NFAT), conduisant à l'intervention de facteurs transcriptionnels agissant notamment sur des anomalies au niveau de la matrice extra-cellulaire (104). Le stretch semble également être à l'origine de l'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA), de l'endothéline-I (105), des facteurs atriaux natriurétiques mais aussi de mécanismes inflammatoires (106) et de stress oxydatif (107). L'ensemble de ces facteurs sont à l'origine du remodelage atrial structurel tel qu'une hypertrophie cellulaire et une dilatation atriale, une modification de la matrice extra-cellulaire avec notamment des processus fibrotiques et des mécanismes apoptotiques.

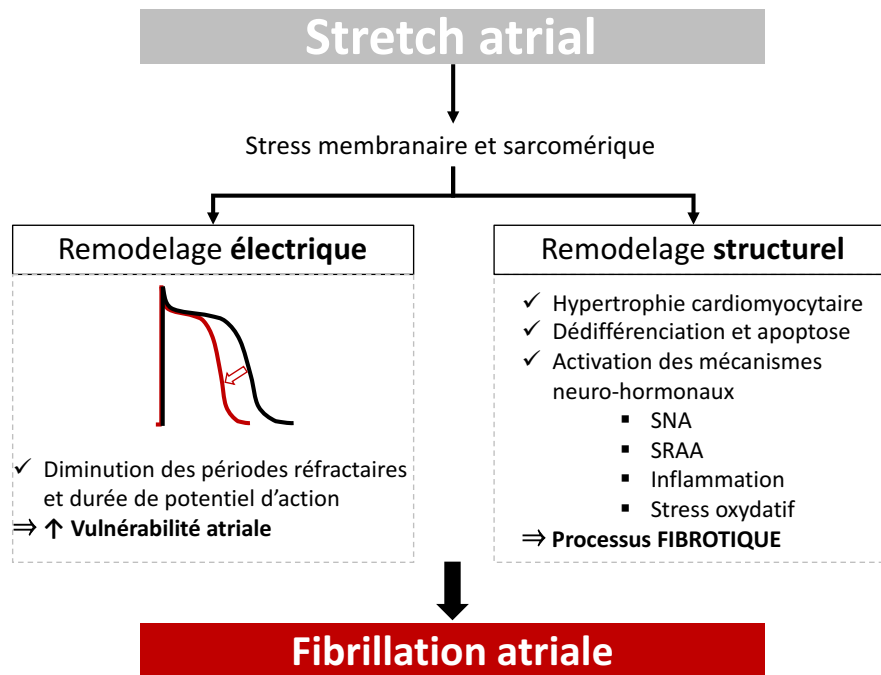


Figure 1 - 6. Mécanismes impliqués dans le remodelage atrial secondaire au stretch atrial

Il est important de noter que le rôle du stretch atrial sur le remodelage atrial est hautement dépendant de la durée d'exposition au stress mécanique induit par le stretch. En effet, aucun mécanisme fibrotique n'est mis en évidence en cas de stretch atrial sur une durée de moins de un mois s'appuyant sur des modèles *in vivo* (106), alors qu'une fibrose importante et une apoptose sont mis en évidence après une exposition au long cours (108).

4. 2. Rôle des mécanismes inflammatoires dans le remodelage atrial

La participation du processus inflammatoire dans la FA est connue de longue date. Dès 1997, des infiltrats inflammatoires et des zones fibrotiques ont été retrouvés au niveau de tissus atriaux de patients avec une FA chronique, qui n'étaient pas présents au niveau d'échantillons tissulaires de patients indemnes de FA (109). L'inflammation

est un facteur pro-arythmique supra-ventriculaire tant important qu'elle est utilisée dans la création de modèles *in vivo* de FA. Ainsi, l'induction d'une péricardite stérile par talcage de l'espace péricardique induit, *via* un mécanisme inflammatoire local, un remodelage atrial responsable d'arythmies supra-ventriculaires et notamment de FA (110). La FA survenant dans un contexte post-opératoire est une situation clinique qui met en évidence le rôle de l'inflammation dans le remodelage atrial, notamment électrophysiologique (111). D'une part, il existe une association forte entre les marqueurs inflammatoires sériques, notamment la protéine C réactive (CRP) et la survenue d'accès de FA en post-opératoire d'une chirurgie cardiaque (112). D'autre part, la survenue des épisodes de FA atteint un pic du troisième au cinquième jour post-opératoire de chirurgie. Or, il s'agit de la période où l'inflammation locale et systémique est la plus élevée. Plusieurs facteurs étiologiques peuvent expliquer la survenue de l'inflammation en période post-chirurgicale cardiaque : l'incision atriale et sa suture, l'ischémie atriale ainsi que la péricardite post-opératoire, la plus souvent stérile (113).

Il est important de rappeler que l'inflammation ne joue pas seulement un rôle causal de remodelage atrial induisant une FA. Elle est également une conséquence de la FA elle-même (114).

L'inflammation est un processus aigu mettant en jeu les monocytes et macrophages, qui larguent en cas de stimulus des cytokines pro-inflammatoires tels que les facteurs de nécrose tumoraux (TNF- α), les interleukines (IL) 6 β , IL-6, les antagonistes des récepteurs à l'IL-1 (115). La CRP est également produite en cours de mécanisme inflammatoire et tient le rôle de marqueur sérique inflammatoire le plus usité en pratique clinique courante.

Les mécanismes cellulaires impliqués dans le remodelage électrophysiologique et structurel en cas d'inflammation locale ou systémique, bien qu'actuellement partiellement compris, ont été récemment précisés. Dobrev *et al.* ont identifié un modèle conceptuel reliant inflammation et remodelage atrial (116): les cytokines pro-inflammatoires, et notamment le TNF- α , se lient au récepteur toll-like 4, permettant *via* le NF κ B d'activer l'inflammasome constitué du complexe de la protéine activatrice de l'inflammasome NLRP3 et de la pro-caspase 1. NLRP3 semble jouer un rôle de facteur transcriptionnel, induisant d'une part une perturbation du métabolisme calcique avec une surcharge cytosolique calcique responsable de post-dépolarisations tardives. Les canaux responsables des courants I_{Kur} et $I_{K,Ach}$ sont également plus intensément exprimés et sont responsables d'une diminution de la DPA et consécutivement une diminution et une hétérogénéité des PRE. Caspase-1 possède une activité pro-fibrotique, *via* l'activation des fibroblastes atriaux, responsable d'un remodelage atrial structurel (116).

4.3. Rôle du système nerveux autonome dans le remodelage atrial

Anatomiquement, le cœur est un organe au niveau duquel l'innervation autonome est extrêmement développée, plus fortement au niveau de l'étage atrial par rapport à l'étage ventriculaire (76). Deux systèmes composent le SNA, tous deux présents au niveau cardiaque : d'une part, le système parasympathique représenté par les afférences nerveuses de la dixième paire crânienne, dont le neurotransmetteur est l'Ach et le récepteur membranaire cardiomyocytaire est le récepteur muscarinique 2 à l'Ach. D'autre part, le système orthosympathique dont le neurotransmetteur principal est la noradrénaline avec pour récepteur membranaire cardiaque le récepteur β

adrénergique. Il est à noter que la représentation conceptuelle classique de l'activité autonome avec d'une part un effet protecteur au long court de l'activité parasympathique et délétère d'autre part de l'activité orthosympathique, ce qui est le cas au niveau vasculaire et par rapport à l'HTA (117), n'est pas valable au niveau des arythmies supra-ventriculaires. L'ensemble des influx para et ortho-sympathiques cardiaques au niveau des cavités atriales peut entraîner un remodelage atrial. Le SNA est un système richement intégré car il est modulé par de nombreux influx efférents provenant des baroréflexes artériels, de chémorécepteurs et de l'innervation rénale. Le SNA possède une grande plasticité neuronale : de nombreuses situations cliniques induisent un remodelage de l'innervation autonome (118), qu'il soit anatomique ou fonctionnel. Celles-ci sont représentées par l'apnée obstructive du sommeil(98), l'HTA, l'IC (119), le reflux gastro-œsophagien, l'obésité, l'activité physique d'endurance (120) ou encore le rythme circadien (121).

À l'échelle cellulaire, les actions para et ortho-sympathiques ont des mécanismes totalement différenciés (**Figure 1 - 7**). L'influx nerveux ortho-sympathique se traduit par la libération de noradrénaline au niveau des cardiomyocytes atriaux, se fixant au niveau du récepteur β -adrénergique. Se produit alors une activation du système de protéine G, permettant l'activation de l'adénylate cyclase (67). L'adénylate cyclase convertit alors l'adénosine triphosphate (ATP) en adénosine monophosphate cyclique (cAMP), activant la protéine kinase A (PKA). La PKA entraîne alors la phosphorylation et ainsi l'activation de protéines modulant le métabolisme intra-cellulaire : la canal calcique de type L entraînant une augmentation du courant $I_{Ca,L}$, du récepteur à la ryanodine, induisant un relargage calcique depuis le réticulum sarcoplasmique dans le cytosol appelé transitoire calcique, et le phospholaban, entraînant une inactivation de cette protéine inhibitrice de la pompe

ATPase calcique du réticulum sarcoplasmique de type 2 (SERCA2) (122). L'augmentation de la concentration cytosolique calcique entraîne l'activation de la calmoduline, activant en cascade l'activation de la kinase dépendante de la calmoduline de type II (CaMKII) et la calcineurine (75). CaMKII et la calcineurine *via* le système NFAT, entraînent des modifications structurelles cellulaires et de la matrice extracellulaire en tant que facteur transcriptionnel telles que l'hypertrophie cardiomyocytaire et la fibrose. A noter que la stimulation adrénergique possède un rôle neuro-hormonal avec un mécanisme pro-inflammatoire et une activation du SRAA. La stimulation adrénergique induit également une activation des canaux ioniques responsables du courant I_{Ks} , une inhibition des canaux ioniques responsables du courant I_{K1} et une activation du canal ionique participant au courant I_f et ainsi une augmentation de l'automaticité cardiaque (76).

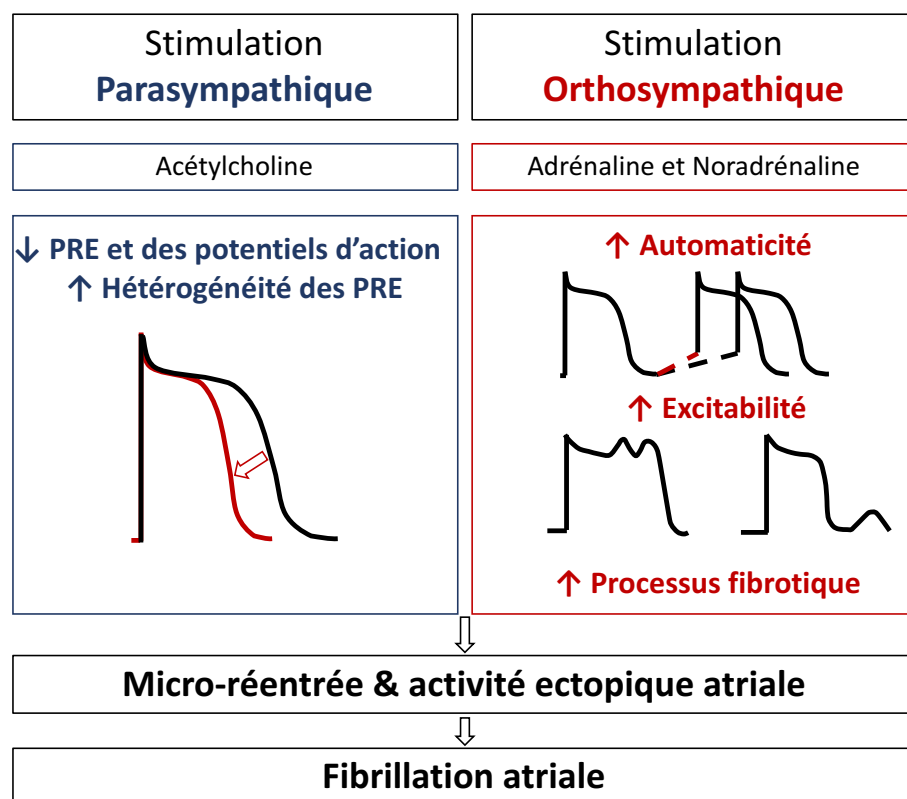


Figure 1 - 7. Mécanismes impliqués dans le remodelage atrial secondaire au stretch atrial

D'autre part, la stimulation parasympathique entraîne une libération d'Ach qui se fixe au niveau du récepteur membranaire muscarinique de l'acétylcholine (123). L'activation par le récepteur membranaire à l'acétylcholine induit une activation de canal ionique contribuant au courant potassique médié par l'acétylcholine $I_{K,Ach}$.

Basées sur les mécanismes intracellulaires décrits précédemment, les anomalies au niveau du SNA entraînent un remodelage atrial électrique et mécanique. Premièrement, la stimulation adrénergique *via* l'augmentation du courant I_f augmente l'automaticité cardiaque. Deuxièmement, la stimulation adrénergique augmente les activités ectopiques atriales par induction de post-dépolarisations précoces *via* l'augmentation du courant $I_{Ca,L}$ et de post-dépolarisations tardives, *via* la majoration du transitoire calcique (124). Troisièmement, les circuits de micro-réentrées sont favorisées par d'une part la stimulation vagale entraînant une diminution hétérogène, du fait de l'hétérogénéité de l'innervation atriale parasympathique (125), des PRE et d'autre part l'induction d'un processus fibrotique *via* la stimulation adrénergique.

5. Implications cliniques liées à la notion de remodelage atrial

D'un point de vue diagnostique, les remodelages électriques et structurels ne sont pas diagnostiqués de manière individualisée. En effet, la prise en charge diagnostique de la maladie rythmique atriale est centrée sur la détection d'épisodes de tachycardie supra-ventriculaire, sans nécessairement prendre en compte la présence et la sévérité d'une cardiomyopathie atriale (9). L'amélioration de la caractérisation des mécanismes aboutissant à la survenue et au développement de la cardiopathie atriale est une perspective intéressante afin d'améliorer la prise en charge clinique de la FA (60).

Concernant la stratégie de contrôle du rythme cardiaque en cas de FA, plusieurs axes thérapeutiques sont disponibles.

Tout d'abord, la cardioversion électrique externe permet un retour à un rythme sinusal et régulier en permettant un remodelage atrial électrique inverse par augmentation de la DPA et à un rétablissement de son adaptation à la fréquence cardiaque (126). Plusieurs traitements médicamenteux anti-arythmiques sont efficaces pour agir sur le remodelage électrique : les molécules de la classe Ic selon la classification de Vaughan-Williams, dont la flécaïnide est la tête de proue, ont une action anti-arythmique par inhibition du courant sodique avec une diminution des vitesses de conduction. Les molécules de la classe III de cette même classification, telles que le sotalol et l'amiodarone, induisent une augmentation des périodes réfractaires des cardiomyocytes atriaux en inhibant le courant repolarisant potassique(9).

Plusieurs stratégies ablatives sont basées sur des stigmates de remodelage électrique afin de cibler les zones d'intérêt. Ainsi, la méthode FIRM a pour objectif de mettre en évidence par cartographie électrophysiologique endocavitaire les zones où siègent des circuits de micro-réentrées fixes, appelés rotors (127). D'autre part, l'iECG permet de manière non invasive d'identifier des circuits de conduction privilégiés, appelés drivers (128). L'implication clinique de cette entité est peu aisée car l'ablation d'un processus instable est difficile à mettre en place.

A noter que la prise en charge thérapeutique du remodelage électrique présente des perspectives intéressantes. En effet, bien que la balance bénéfice-risque des traitements anti-arythmiques n'est pas hautement favorable (24), principalement du fait de leur effet pro-arythmogène à l'étage ventriculaire, des nouvelles cibles thérapeutiques ont été identifiées. Ainsi, des molécules réduisant le courant potassique

médié par l'acétylcholine auraient un potentiel clinique fort grâce à une présence privilégiée de ces canaux au niveau des cavités atriales. L'inhibition du courant potassique de type I_{K1} semble également être une cible intéressante.

D'autre part, différentes thérapeutiques permettent d'intervenir au niveau du remodelage structurel en cas de FA. Au niveau médicamenteux, plusieurs mécanismes pharmacologiques ont été étudiés pour moduler le processus fibrotique. Expérimentalement, plusieurs molécules agissant à différents étages du SRAA, tels que l'éprélénone(129), les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) et les antagonistes du récepteur à l'Angiotensine II (ARA2) (130) limitent le processus fibrotique et les anomalies des jonctions communicantes lors d'une FA. La réversibilité de la fibrose par ces molécules reste un sujet controversé (131, 132). De plus, les données cliniques sont limitées : en effet, seules des données observationnelles rétrospectives objectivent une association entre l'administration de molécules modulant le SRAA et une diminution de l'incidence de la FA. Des essais contrôlés, randomisés avec puissance élevée sont attendus pour confirmer l'efficacité de cet axe thérapeutique. La prise en compte du remodelage structurel est également possible en cas de stratégie ablative. L'évaluation du taux de fibrose atriale par rehaussement tardif au gadolinium en imagerie par résonance magnétique (IRM) permet d'obtenir le score UTAH (133). L'intensité de la fibrose peut également être estimée par échocardiographie *via* la taille de l'oreillette et le strain 2D de la paroi atriale gauche (134), hautement corrélée à la quantification de la fibrose atriale par IRM. Une procédure ablative guidée par les caractéristiques du processus fibrotique semble une perspective intéressante, un essai clinique contrôlé et randomisé est en cours. L'évaluation de la sévérité du remodelage structurel par estimation du taux de fibrose et l'évaluation des anomalies architecturales auriculaires gauches sembleraient également être utile pour estimer la sévérité de la

cardiopathie atriale afin de s'orienter vers une stratégie de contrôle de la fréquence ventriculaire en abandonnant l'objectif de contrôle du rythme atrial (60).

Partie 3 - Interrelation entre fibrillation et flutter atrial

Les premières descriptions cliniques de palpitations cardiaques, rattachées rétrospectivement à des tachycardies supra-ventriculaires ont été rapportées de façon détaillée dès le XVII^{ème} siècle par William Harvey et Jean-Baptiste Sennac (135). Les travaux hémodynamiques de MacKenzie ont permis de préciser les mécanismes impliqués dans les tachycardies supraventriculaires, sans toutefois les distinguer les unes des autres (136). C'est avec l'avènement de l'ECG de surface qu'Einthoven mit en évidence pour la première fois en 1906 l'aspect électrique de trémulation de la ligne de base qui sera par la suite appelé FA (136). Dès 1911, une publication met en évidence deux entités électrophysiologiques différentes de tachycardies supra-ventriculaires associées à des complexes QRS fins : la FA et le flutter atrial (FLA) (137). FA et FLA ont donc été différenciés depuis plus d'un siècle.

Cependant, la FA et le FLA possèdent des similitudes au niveau épidémiologique, diagnostique et thérapeutique, au point que les différentes sociétés savantes de cardiologie, que ce soit l'ESC (9) ou l'association américaine de cardiologie (AHA) et le collège de cardiologie américain (ACC) (36) présentent des recommandations communes concernant la prise en charge diagnostique et thérapeutique de la FA et du FLA. Les aspects épidémiologiques et mécanistiques de l'interrelation entre FA et FLA seront ainsi présentés dans cette section.

Le FLA regroupe plusieurs entités nosologiques différentes, présentant comme point commun le mécanisme électrophysiologique de macro-réentrée autour d'une zone de bloc de conduction anatomique ou fonctionnelle. Par considération didactique ne seront considérés ici que les FLA typiques, c'est-à-dire de topographie droite avec passage de la macro-réentrée par l'isthme cavo-tricuspidé (ICT).

1. Considérations épidémiologiques de la relation entre fibrillation et flutter atrial

1. 1. Interrelation entre fibrillation et flutter atrial : à propos des facteurs étiologiques

Plusieurs études épidémiologiques, le plus souvent rétrospectives, ont étudié les facteurs de risque de survenue de FLA. Ainsi les facteurs associés indépendamment à la survenue de FLA sont les antécédents de tabagisme, d'infarctus du myocarde, d'IC clinique et d'altération de la fonction systolique ventriculaire gauche et de BPCO (138, 139). A noter que l'ensemble de ces facteurs de risques sont prédictifs à la fois de la survenue de FLA et de FA (92, 140). Ainsi, il n'est surprenant que deux maladies de mécanismes électrophysiologiques différents mais présentant de nombreux facteurs de risque en commun soient diagnostiquées dans une même population de patient.

Il est cependant intéressant de noter des différences en terme de facteurs de risque pour ces deux différentes arythmies atriales. D'une part, la présence d'une cardiopathie valvulaire mitrale est associée, mais dans une moindre proportion avec le FLA qu'avec la FA (138). Cette différence pourrait être expliquée par le fait que les valvulopathies mitrales induisent principalement un remodelage en aval de l'appareil valvulaire mitral, au niveau de l'OG (141). De même, les patients présentant un FLA possèdent un intervalle PR plus important que les patients développant une FA (138). Cette différence au niveau de l'ECG de surface pourrait avoir une explication mécanistique. En effet, l'augmentation de l'intervalle PR est un marqueur clinique simple de la diminution de la propagation et des vitesses de conduction au sein des cavités atriales (142). Or, les tachycardies basées sur une macro-réentrée nécessitent afin de se stabiliser une vitesse de conduction abaissée de la propagation électrique au sein de la cavité dans laquelle elle se développe. D' autre part, l'HTA est

indépendamment associée aux deux arythmies atriales, mais plus fortement avec la FA (139).

Différentes études ont étudié les facteurs prédictifs de survenue de FA après traitement curatif du FLA par ablation endocavitaire *via* la création d'une ligne de bloc de conduction par radiofréquence. Ainsi, la présence d'une valvulopathie mitrale cliniquement significative, l'altération de la fonction systolique ventriculaire gauche représentée par la diminution de la fraction du ventricule gauche (FEVG) sont indépendamment associées à la survenue de FA après traitement du FLA (143, 144). De plus, la dilatation atriale gauche semble jouer un rôle majeur dans l'incidence élevée de FA en post-procédure d'ablation de FLA. En effet, les augmentations échocardiographiques du diamètre (145), de la surface (146) ou du volume indexé de l'oreillette gauche (147) sont associées à une incidence plus élevée de FA, à court et à long terme. Ce facteur prédictif anatomique pourrait apporter un éclairage sur l'interrelation entre FA et FLA : la présence d'un remodelage atrial structurel important, représenté par une dilatation de l'OG présente lors du traitement du FLA est un facteur de risque de survenue de FA. L'utilisation du score clinique HATCH pour identifier les patients à risque de développer une FA après traitement du FLA présente des résultats intéressants en terme de sensibilité et de spécificité (148). Or, ce score, comprenant comme composante les antécédents de BPCO, d'accident ischémique transitoire (AIT) et d'AVC, d'HTA, d'IC et d'un âge supérieur à 75 ans a été initialement développé et validé comme score prédicteur de FA paroxystique en FA permanente (11). Des prédicteurs épidémiologiques identiques sont donc retrouvés entre FLA et FA d'une part et FA paroxystique et FA permanente d'autre part, suggérant l'intervention du remodelage atrial dans l'établissement d'une maladie rythmique atriale persistante.

1. 2. Interrelation entre fibrillation et flutter atrial : à propos de la chronologie de survenue

Bien que le FLA et la FA partagent des caractéristiques communes, leur prévalence et leur incidence n'est pas similaire. En effet, la FA est actuellement la tachycardie supra-ventriculaire la plus fréquente (149). Le FLA est une pathologie rythmique atriale moins fréquente, avec une prévalence estimée à 88 pour 100 000 personnes dans la population générale(150). Il est à noter que cette prévalence inclut l'ensemble des FLA, comprenant ainsi les patients ayant présenté à la fois de la FA et du FLA. La prévalence du FLA dans la population générale comme unique pathologie rythmique supra-ventriculaire s'abaisse à 37 pour 100 000 personnes, témoin de la forte association entre la FA et le FLA (150). Tout comme la FA, la prévalence du FLA est hautement reliée à l'âge de la population d'étude : alors qu'elle n'est que de 5 pour 100 000 personnes avant l'âge de 50 ans, elle atteint 590 pour 100 000 patients après l'âge de 80 ans (150).

Épidémiologiquement, il existe une forte association chronologique entre FLA dans un premier temps et FA dans un second temps. En effet, un patient ayant présenté un FLA présente un risque après traitement de celui-ci plus de 10 fois plus élevé de présenter une FA que la population générale, que ce soit à court terme avec un suivi de trois ans (151), et à long terme après 30 ans de suivi (138). À souligner que la suppression du FLA par ablation de l'ICT permet de réduire de moitié la survenue de FA en post-procédure, sans toutefois l'éliminer (151). La survenue de FA intervient à chaque étape du suivi post-procédure de FLA : elle n'est pas négligeable dans les trois mois suivant l'intervention endocavitaire (152), atteignant près de 15% après deux ans de suivi et plus de 25% lors d'un suivi de plus de deux ans (153).

Il est important de rappeler que l'estimation de la survenue de FA au cours du suivi est difficile à évaluer car il s'agit d'une pathologie le plus souvent asymptomatique : la prévalence de la FA en post-procédure ablative de FLA au sein d'une même population varie en fonction de l'agressivité, variant du simple au triple selon que le dépistage de FA se fasse par ECG de surface itératifs (153) ou par enregistreur rythmique implantable (154).

L'incidence de FA après diagnostic et prise en charge thérapeutique du FLA est hautement liée à la présence d'un antécédent de FA avant le diagnostic de FLA. Après un suivi de plus de deux ans après l'ablation de FLA, la prévalence de FA est de 51% dans la population de patients ayant un antécédent de FA avant la procédure ablative, alors qu'elle n'est que de 26% dans la population de patients n'ayant jamais présenté de trouble du rythme supra-ventriculaire (153). Cependant, il n'existe pas de différence en terme de prévalence de FA après la survenue de FLA après un suivi clinique de longue durée de plus de 5 ans (155). Ces différentes données épidémiologiques, soulignant l'importance des antécédents de FA avant la mise en évidence du FLA, permettent de soulever plusieurs hypothèses. Premièrement, la FA pourrait être une gâchette arythmogénique nécessaire à la survenue de FLA. Deuxièmement, les épisodes de FA initiaux pourraient être un marqueur de remodelage atrial qui agit tel un substrat dans la survenue de FLA. Enfin, le FLA pourrait induire un remodelage atrial qui est un substrat nécessaire à la survenue secondaire de FA.

La succession de différentes tachycardies supra-ventriculaires chez un même patient vient soutenir la thèse de l'importance du remodelage atrial secondaire à une pathologie atriale dans la survenue de FA. Ainsi, la survenue de FA (156) et de FLA (157) ne semble pas négligeable chez les patients avec antécédent de tachycardie par réentrée intra-nodale (TRIN). Les patients présentant une TRIN présentent un

remodelage atrial électrique, notamment une diminution des PRE, pouvant expliquer la survenue consécutive d'arythmies supra-ventriculaires (158). Cette hypothèse est soutenue par le fait qu'en dépit de l'ablation de la voie lente en cas de TRIN, celle-ci ne diminue pas l'inductibilité de FLA, suggérant un rôle indirect de la TRIN sur la survenue de FLA (159).

Bien que la survenue de FLA après la mise en évidence de FA semble également exister, celle-ci est moins bien documentée. La plupart des études existantes s'intéresse à l'épidémiologie des arythmies supra-ventriculaires à l'issue d'ablation endocavitaire de FA (160). Bien que la majorité des arythmies post-ablatives soit représentée par la survenue de macro-réentrée au sein de l'OG, la survenue de FLA typique est estimée à 10% des arythmies totales (161).

1. 3. Interrelation entre fibrillation et flutter atrial : à propos des complications

D'un point de vue épidémiologique, la FA et le FLA partagent les mêmes complications. En effet, il est retrouvé une association indépendante entre la survenue de FLA et l'augmentation de la morbi-mortalité (162). D'une part, le FLA est associé à une augmentation de la survenue d'IC par un facteur 4 (138). D'autre part, le FLA est indépendamment associé à une augmentation de la mortalité par un facteur 2 (138).

Le FLA est associé à une augmentation significative du risque thrombo-embolique, par embolie systémique mais surtout AVC, avec un facteur 2.2 par rapport à la population générale. Cependant, l'estimation du risque thrombo-embolique secondaire au FLA est difficile à établir, les études disponibles comportant des limites méthodologiques, dont l'inclusion de populations de petite taille ce qui rend les

résultats contradictoires (143). Plusieurs hypothèses mécanistiques ont été avancées pour expliquer l'augmentation du risque thrombo-embolique en cas de FLA.

D'une part, il existe un faisceau d'arguments appuyant l'existence d'anomalies thrombo-emboliques directement imputables au FLA. Bien qu'il ne s'agisse seulement d'une revue de littérature regroupant des études hétérogènes et de faible taille, rendant la réalisation d'une méta-analyse impossible, il existe des arguments forts en faveur d'une stase atriale en cas de FLA ayant pour conséquence la présence entre 21 et 28% de contraste spontané objectivée à l'échocardiographie trans-œsophagienne, tout comme un risque accru de thrombus intra-atrial (163). Ces résultats sont appuyés par une étude récente dépistant, de manière systématique avant cardioversion électrique externe, la présence de processus thrombotique intra-atrial (164).

D'autre part, le risque thrombo-embolique consécutif à la mise en évidence de FLA pourrait être indirect et être expliqué par l'augmentation du risque thrombo-embolique *via* la survenue de FA secondaire au FLA (165). Dans cette hypothèse, la FA consécutive augmenterait directement le risque thrombo-embolique.

Comparativement à la FA, les patients ayant présenté un FLA semblent présenter une augmentation de la morbi-mortalité plus faible par rapport à la population générale. En effet, la FA semble être responsable d'une augmentation du risque d'AVC par rapport au FLA par un facteur 1.6, les hospitalisations par un facteur 1.7 et la mortalité toute cause par un facteur 1.1(166). De plus, même les patients présentant une FA consécutive à la survenue de FLA semblent présenter un risque thrombo-embolique moins important que les patients présentant uniquement une FA(167).

2. Considérations mécanistiques de la relation entre fibrillation et flutter atrial

Les mécanismes physiopathologiques mis en jeu dans la relation entre la FA et le FLA seront explicités dans cette prochaine partie (**Figure 1 - 8**), après avoir détaillé les mécanismes physiopathologiques propres à chacune d'entre elles. Enfin, l'apport des essais cliniques dans la compréhension de la physiopathologie reliant la FA et le FLA sera présenté, ainsi que leur perspective clinique.

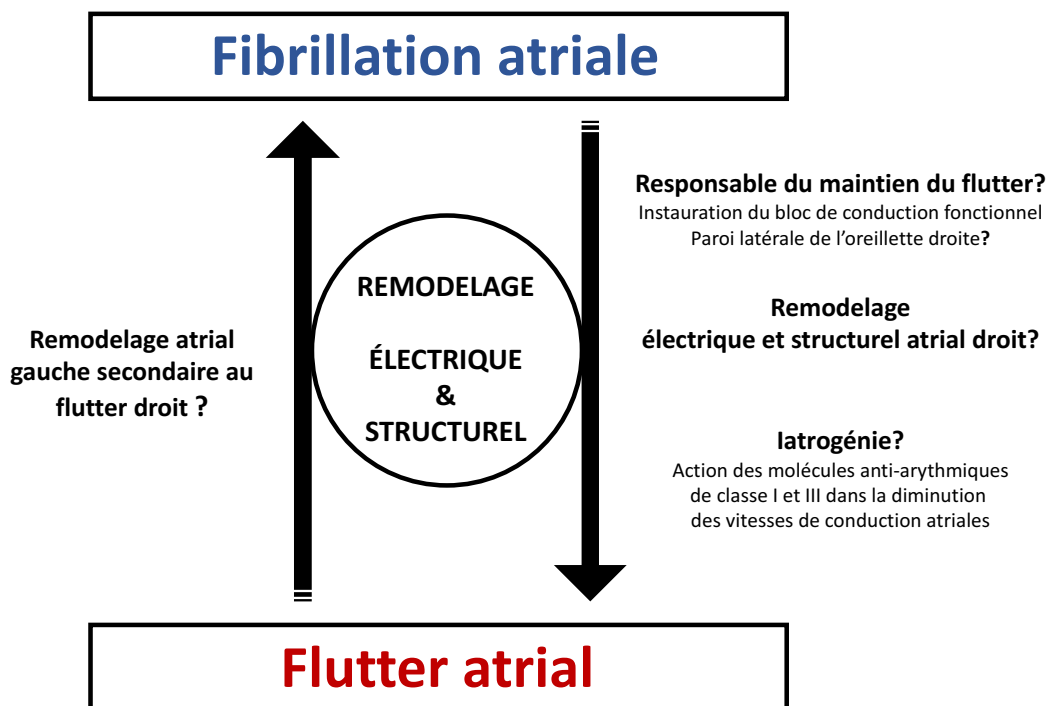


Figure 1 - 8. Approche conceptuelle de l'interrelation entre fibrillation et flutter atrial, centré sur le remodelage atrial

2. 1. Fibrillation et flutter atrial : deux mécanismes électrophysiologiques différents

A - Description mécanistique du flutter atrial

Le FLA typique antihoraire est une tachycardie supraventriculaire caractérisée par une macro-réentrée au niveau de l'oreillette droite (OD) avec activation passive, c'est-à-dire en dehors de la réentrée, de la cavité atriale gauche (168). Le circuit de macro-réentrée emprunte systématiquement la zone située entre la veine cave inférieure (VCI) et l'appareil valvulaire tricuspide, appelé ICT. Il atteint alors le toit de l'oreillette droite *via* le septum inter-atrial puis rejoint l'ICT dans une zone proche de la paroi latérale de l'OD, au niveau de la *crista terminalis* (169).

Il est important de souligner l'importance de barrières électrophysiologiques au sein de la cavité droite pour l'initiation et le maintien du circuit de macro-réentrée. Premièrement, il existe une barrière anatomique constituée par l'appareil valvulaire tricuspide. Dès 1920, Lewis met en évidence la macro-réentrée impliquée en cas de FLA, avec le rôle crucial de la valve tricuspide dans la perpétuation de l'arythmie (170). Cependant, il rapporte une grande difficulté à induire ce type de tachycardie supraventriculaire chez un chien sain, suggérant l'importance d'un substrat arythmogène dans la physiopathologie du FLA. Secondairement, la présence d'une seconde barrière électrophysiologique est mise en évidence, constituant une ligne de bloc de conduction inter-cavale proche de la *crista terminalis*.

Cependant, le mécanisme à l'origine de la ligne de bloc de conduction, n'est pas clairement établi. D'une part, un faisceau d'arguments plaide en faveur d'une origine structurelle à cette barrière. Les muscles pectinés à l'origine des trabéculations endocavitaires au niveau de la partie latérale de l'OD sont suspectés de jouer un rôle de barrière anatomique (171). De plus, plusieurs modèles canins de FLA par création

d'une zone de bloc de conduction lésionnelle ont été établis (172). Ainsi, Frame *et al.* ont développé un modèle de FLA en établissant des lésions-sutures en Y au niveau de la paroi antérolatérale de l'OD, décrit initialement comme un FLA typique (173). Cette hypothèse est confortée par la survenue de FLA en post-opératoire de chirurgie cardiaque de cardiopathie congénitale, la zone cicatricielle de l'atriotomie droite jouant le rôle de zone de bloc de conduction (174). La ligne de bloc de conduction inter-cavale pourrait être structurelle sans avoir obligatoirement une composante anatomique. En effet, certains modèles canins de cardiopathies droites, tels que l'insuffisance tricuspidiennne associée à une sténose pulmonaire induisent un remodelage structurel atrial droit (175), avec augmentation des zones fibrotiques. De manière concomitante, une augmentation de la vulnérabilité au FLA est objectivée, suggérant l'implication des zones de fibrose comme composante du circuit de macro-réentrée. D'autre part, plusieurs éléments plaident en faveur d'une étiologie fonctionnelle de la ligne de bloc de conduction inter-cavale. Le modèle canin de péricardite stérile par talcage est largement utilisé afin d'étudier le FLA chronique. La péricardite fonctionnelle, *via* un processus inflammatoire local, provoquerait une ligne de bloc de conduction fonctionnelle (176). De plus, la perfusion *ex vivo* d'acétylcholine intra-coronaire, reproduisant une réponse vagale est également à l'origine de réentrées atriales, notamment au niveau de la paroi latérale de l'OD (177). Le mécanisme mis en jeu dans l'établissement du substrat permettant l'initiation et le maintien du FLA dépend donc fortement du modèle expérimental utilisé, ne permettant pas de préciser le mécanisme responsable de la ligne de bloc inter-atriale en physiopathologie clinique. Même si l'étiologie responsable de la ligne de bloc de conduction inter-cavale n'est pas clairement identifiée et probablement mixte, la présence des lignes de bloc de

conduction inter-cavale et tricuspide dans la physiopathologie du FLA n'en reste pas moins indispensable.

B - Description mécanistique de la fibrillation atriale

À la différence du FLA, la FA ne possède pas la même unicité électrophysiologique, tant sur le plan des mécanismes mis en jeu que de leur topographie.

Deux entités électrophysiologiques coexistent en cas de FA : les gâchettes électriques et les mécanismes de micro-réentrée. D'une part, les gâchettes électriques sont provoquées au niveau cellulaire par une augmentation des post-dépolarisations précoces et tardives, mais aussi *via* l'augmentation de l'automatisme cardiaque (178). D'autre part, les mécanismes de micro-réentrée font intervenir d'autres déterminants, avec notamment la présence d'un substrat arythmogène secondaire au remodelage atrial détaillé précédemment. À noter que le remodelage électrique *via* la diminution et l'hétérogénéité des PRE est impliqué dans les mécanismes de réentrée, tout comme le remodelage structurel, par l'implication d'une augmentation du processus fibrotique, d'anomalies des communications électriques intercellulaires par altération des jonctions communicantes, l'hypertrophie et la dilatation atriale (158).

La FA possède une présentation topographique différente et moins organisée que le FLA. Haïssaguerre *et al.* objectivent dans un premier temps des gâchettes arythmogènes au niveau des VP (48). Cependant, le remodelage électrique et structurel des cavités atriales droites et gauches participent au mécanisme fibrillatoire (179). Dans un second temps, d'autres structures anatomiques ont été mises en évidence comme étant potentiellement responsables en partie des mécanismes de FA comme la VCS (180) et le ligament de Marshall (181).

2. 2. Hypothèses des mécanismes mis en jeu dans l'interrelation entre fibrillation et flutter atrial

A - La fibrillation atriale comme promoteur de flutter atrial

Une hypothèse mécanistique théorise le rôle de la FA comme promoteur principal du FLA. En effet, la FA pourrait être responsable de la mise en place d'une ligne de bloc fonctionnelle au niveau de la partie latérale de l'OD (176). En effet, plusieurs études fondamentales électrophysiologiques *in vivo* ont mis en évidence la présence d'une salve de FA à la suite d'une stimulation endocavitaire atriale rapide avant qu'une tachycardie macro-réentrante droite compatible avec un FLA typique ne se développe (182). Cette hypothèse électrophysiologique a été caractérisée en détail grâce au modèle canin inflammatoire de péricardite stérile, notamment par Waldo *et al.* (183). Des analyses endocavitaires *in vivo* ont permis de détailler les différentes phases aboutissant à une macro-réentrée atriale droite à partir d'une tachycardie focale. Dans un premier temps, les dépolarisations successives à fréquence élevée induisent un remodelage endocavitaire électrique aigu aboutissant à une diminution de la vitesse de conduction du front de dépolarisation (184). Les vitesses de conduction diminuent au point d'aboutir à une ligne de bloc unidirectionnel puis à une ligne de bloc de fonctionnel. Une macro-réentrée autour de la ligne de bloc fonctionnel est alors finalement établie à l'arrêt de la stimulation atriale rapide.

Le fait que l'ensemble des mécanismes fibrillatoires atriaux n'aboutissent pas à l'établissement d'un FLA met en lumière une problématique mécanistique : il existe des déterminants électrophysiologiques expliquant qu'un mécanisme fibrillatoire atrial puisse aboutir soit à une macro-réentrée stable, soit à la persistance d'une FA. Dans le même modèle de péricardite stérile, l'établissement d'un FLA n'est pas systématique, ne représentant qu'une minorité des tachycardies supra-ventriculaires déclenchée par

stimulation atriale rapide (184). Afin de caractériser les facteurs impliqués dans l'induction de différentes arythmies à partir d'un même mécanisme fibrillatoire, la différence de longueur de la ligne de bloc inter-cavale a été mise en évidence : si la dépolarisation atriale rapide induit une courte ligne de bloc de conduction, il persiste une FA du fait d'une faible durée du cycle de la tachycardie (182). *A contrario*, si une longue ligne de bloc fonctionnelle est établie, l'induction de FLA est établie grâce à une durée de cycle de tachycardie élevée.

Cependant, plusieurs arguments pondèrent cette hypothèse mécanistique, expliquant le caractère non obligatoire de la survenue de FA avant l'établissement d'un FLA. Premièrement, la stimulation rapide atriale endocavitaire peut entraîner une arythmie par FLA sans FA transitoire préalable (185). Deuxièmement, il existe des modèles expérimentaux canins permettant d'initier un FLA par un extra-stimulus atrial. Dans ce cas, la ligne de bloc de conduction latérale de l'OD est exclusivement structurelle, ne mettant donc pas de mécanisme fonctionnel lié au remodelage électrique secondaire à la FA (173). Enfin, la mise en place d'une ligne de bloc de conduction fonctionnel n'est pas obligatoirement liée au remodelage électrique lié à la FA : des modèles expérimentaux mettent en évidence des mécanismes différents tels que l'inflammation et l'hyperactivité vagale (177).

Les données issues d'études pharmacologiques en rapport aux molécules anti-arythmiques de classe I et III de la classification de Vaughan-Williams donnent un éclairage différent du lien entre la FA d'une part et le FLA d'autre part. En effet, les molécules de classe I telles que la flécaïnide (186) ou le propafénone (187), en inhibant le courant sodique au sein des cardiomyocytes atriaux, et certaines molécules de la classe III telles que l'amiodarone (188), diminuent les vitesses de conduction au niveau des cavités atriales. De fait, des conversions de FA en FLA sont indépendamment

associés avec ce remodelage électrique iatrogène chronique, mettant en évidence la relation mécanistique entre la FA et les macro-réentrées droites de type FLA.

B - Le flutter atrial comme promoteur de fibrillation atriale

Des explorations électrophysiologiques endocavitaires ont été réalisées chez des patients avec FLA paroxystique ou chronique afin d'évaluer le remodelage atrial secondaire à cette tachycardie supra-ventriculaire (189). Or, il a été détaillé précédemment l'importance du remodelage atrial électrique et structurel dans l'initiation et la persistance de la FA. Sparks *et al.* ont objectivé une diminution significative de 20% des PRE après une durée de FLA de moins de dix minutes par rapport aux PRE mesurées en rythme sinusal et régulier. Le remodelage électrique atrial objectivé est réversible puisque les PRE mesurées dix minutes après l'arrêt de la tachycardie sont normalisées. De plus, il existe une susceptibilité forte à développer chez des patients à la suite d'un épisode de FLA paroxystique puisque la moitié des patients ont présenté, spontanément ou lors de la mesure des PRE, des épisodes cliniquement significatifs de FA. L'étude du remodelage atrial induit par le FLA chronique confirme la présence d'un remodelage électrique, avec cependant une réversibilité se faisant sur une plus grande période, après approximativement quinze jours.

Un modèle expérimental ovin de FLA chronique, utilisant la technique d'atriotomie droite en Y, vient confirmer les résultats obtenus en cliniques en étudiant l'évolution des paramètres électrophysiologiques atriaux au cours du FLA chronique (190). À noter une conversion spontanée du rythme pour un des sujets après cinq jours de FLA en FA persistante. De plus, plusieurs paramètres attestent du remodelage électrique atrial secondaire après un mois de FLA tels que la diminution des PRE droites et gauches, et l'augmentation de la vulnérabilité à la FA.

De manière anecdotique, un cas d'exploration électrophysiologique humain souligne la relation entre le FLA d'une part et la FA d'autre part. En effet, une exploration endocavitaire devant un aspect ECG de surface compatible avec une FA a mis en évidence un FLA avec pour substrat une cicatrice chirurgicale d'atriotomie droite réalisée pour correction de cardiopathie congénitale qui tenait le rôle de facteur promoteur de FA. Des mécanismes fibrillatoires au sein de l'OGont été mis en évidence (191). L'ablation par radiofréquence du FLA, par création d'une ligne de bloc de conduction au niveau de l'ICT, a permis un arrêt brutal de la FA.

Enfin, la cohabitation de FLA et de FA a été rapportée avec la présence d'ectopies atriales au cours d'un FLA avec macro-réentrée droite stable responsable d'un aspect de fibrillo-flutter à l'ECG de surface (152). L'ablation des ectopies atriales permet un arrêt de l'aspect de fibrillo-flutter avec un aspect classique de FLA. Le FLA et la FA peuvent donc coexister, d'autant plus que le FLA induit un remodelage atrial qui est un facteur promoteur de FA.

2. 3. Mécanistique de l'interrelation entre fibrillation et flutter atrial : apport des données cliniques

Basés sur les données épidémiologiques et mécanistiques de l'interrelation entre FA et FLA, des essais cliniques visant à prévenir la survenue de FA en post-ablation de FLA par traitement préventif interventionnel ont été entrepris. Les patients inclus dans ces essais cliniques présentaient des FLA paroxystiques ou chroniques, mais sans aucun antécédent de FA (192, 193). Deux stratégies d'ablation endocavitaire étaient testées : soit une stratégie conventionnelle avec ablation par ligne de bloc de conduction bidirectionnel par radiofréquence au niveau de l'ICT, soit une isolation des quatre VP en plus de la ligne de bloc de conduction au niveau de l'ICT. Au prix d'une

augmentation du temps de procédure et d'une augmentation du temps de fluoroscopie, la survenue de FA et le recours à un traitement anti-arythmique secondaire à la survenue de FA est significativement réduit en cas de stratégie combinée par rapport à une intervention conventionnelle. A noter que ces études présentent comme limite leur faible puissance statistique du fait du nombre limité de patient inclus, ne permettant pas d'évaluer les effets indésirables surajoutés liés à la complexité de la stratégie combinée, *via* la ponction trans-septale notamment, chez des patients ne présentant aucune preuve de maladie atriale rythmique gauche. De plus, le fondement médico-économique de la stratégie combinée en cas de FLA isolé n'est pas clairement établi (194).

Un essai clinique semble confirmer l'hypothèse que le FLA est un facteur promoteur de FA. Dans une étude interventionnelle de petite taille, Moreina *et al.* ont en effet inclus deux populations différentes (61) : d'une part, un groupe avec FA paroxystique et antécédent de FLA, d'autre part un groupe avec FA paroxystique sans aucun antécédent de FLA. Alors que le groupe incluant des patients ayant présenté seulement des épisodes de FA bénéficiait d'une cryoablation endocavitaire par isolement des VP, le groupe de patients ayant développé à la fois de la FA et du FLA était traité par traitement endocavitaire avec cryoablation au niveau des quatre VP et au niveau de l'ICT afin d'y réaliser une ligne de bloc de conduction. Les résultats du suivi en terme de récurrence de FA sont intéressants : au cours des deux ans de suivi, le groupe FA et FLA présentait un taux de récurrence de FA près de sept fois plus élevé que le groupe FA seule. À noter qu'aucune récurrence de FLA n'était objectivée au décours de la réalisation de la ligne de bloc de conduction de l'ICT. Ces résultats suggèrent que les patients ayant un antécédent de FLA en plus de la FA paroxystique présentent un remodelage atrial électrique et structurel plus important que celui induit par une FA isolée, induisant un risque de survenue de FA plus important.

Ces données sont en adéquation avec la mise en évidence des facteurs pronostiques de survenue de FA au cours du suivi clinique après l'ablation endocavitaire de FLA (195). En effet, la prise médicamenteuse d'IEC, d'antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (ARA2) et de diurétiques de l'anse sont indépendamment associés à une diminution de l'incidence de FA après traitement efficace de FLA. Ces données suggèrent l'efficacité des thérapeutiques anti-remodelantes atriales en post-ablation de FLA, possiblement induit par le FLA, afin de prévenir la survenue de FA.

Plusieurs études proposent des facteurs prédictifs de survenue de FA au décours de l'ablation de FLA en tant que marqueur du remodelage atrial induit par le FLA. Ces différents facteurs sont recueillis au cours de l'exploration électrophysiologique et de l'ablation endocavitaire de FLA, à partir de manœuvres effectuées au niveau de l'OD. Le remodelage atrial semble ainsi être évalué, *via* le dépistage d'alternance de PA atriaux (196) et l'étude de la vulnérabilité à développer de la FA par manœuvre de stimulation atriale rapide (197). Le remodelage atrial structurel est probablement évalué par mesure des vitesses de conduction au sein de l'OD (198). PA atriaux alternants, vulnérabilité atriale à développer de la FA et diminution des vitesses de conduction atriales droites sont autant de marqueurs indépendants de remodelage atrial au décours du FLA associés à une augmentation de l'incidence de la FA.

D'autre part, différents essais cliniques illustrent l'effet de la FA comme promoteur de macro-réentrée droite de type FLA. En effet, Schneider *et al.* (199) ont évalué l'effet de l'isolement des VP, afin d'isoler les gâchettes arhythmogènes présentes en cas de FA, chez des patients présentant une tachycardie supraventriculaire par FLA, sans antécédent de FA. En l'absence de création d'une ligne de bloc de conduction au

niveau de l'ICT, il est reporté une prévention de la récurrence de FLA. De plus, en présence de FLA persistant sans antécédent de FA, l'isolement additionnel des VP permet d'améliorer la prévention des tachycardies supra-ventriculaires. Enfin, en cas de FA et FLA concomitantes, la stratégie interventionnelle d'ablation de FA par isolement des VP permet de réduire à la fois le taux de survenue de FA et de FLA.

L'ensemble de ces données sont en faveur de l'implication des gâchettes arythmogènes au sein des VP et du régime fibrillatoire au sein des cavités atriales dans la mise en place d'un macro-réentrée droite.

Partie 4 - Effets de la fréquence ventriculaire sur le remodelage atrial

1. La fibrillation atriale comme promoteur d'insuffisance cardiaque : notion de cardiopathie rythmique

1. 1. Aspect épidémiologique

Dès 1914, James MacKenzie met en évidence l'association forte entre la FA et l'IC (200). La FA et l'IC ont été depuis plus finement étudiés : il existe une association forte et indépendante de ces deux pathologies qui représentent des épidémies en augmentation constante dans les pays industrialisés. Ainsi, parmi les patients présentant une FA ou une IC, ces deux pathologies sont associées dans 15 à 30% des cas (201, 202). De plus, une étude de la prévalence de la FA et de l'IC au sein de la cohorte étudiée dans la Framingham Heart Study de 1948 à 1995, objective une prévalence de 26% de l'association FA et IC parmi les patients ayant développés soit une FA soit une IC (203). De plus, la prévalence de la FA est d'autant plus élevée que l'IC est sévère : elle n'est présente que chez 5% des patients présentant une dysfonction ventriculaire gauche modérée mais atteint 50% en cas d'IC sévère (204).

D'un point de vue épidémiologique, l'association fréquente de la FA et de l'IC peut être expliquée par la présence de nombreux facteurs de risque communs aux deux pathologies tels que l'âge, l'HTA, le diabète, l'obésité, les cardiopathies ischémiques et valvulaires. Cependant, la FA et l'IC sont significativement et indépendamment associés lors des études prenant en compte leurs facteurs de risque communs (92).

La FA, lorsqu'elle est associée à l'IC, est responsable d'une augmentation de sa symptomatologie et de sa morbidité : la FA est associée à une dégradation de la dyspnée *via* la classification de l'association new-yorkaise de cardiologie (NYHA), une

diminution de la VO_2 max, de l'index cardiaque et une augmentation des incontinences valvulaires mitrales et tricuspides (205). La restauration d'un rythme sinusal en cas d'IC entraîne une réversibilité des atteintes liées à la FA telles que l'augmentation du débit cardiaque, des performances à l'exercice et de la VO_2 max (206).

Cependant, bien que la FA et l'IC soient fréquemment associés, l'ensemble des IC rencontrées ne sont pas considérées comme des cardiopathies rythmiques. En effet, la cardiopathie rythmique, induite le plus fréquemment par la FA mais pouvant être également causée par d'autres arythmies supra-ventriculaires ou ventriculaires telles que les extrasystoles ventriculaires (ESV), répond à une définition précise. Il s'agit d'une dysfonction ventriculaire gauche le plus souvent systolique, mais pouvant être également diastolique isolée en cas de FA, associée à une arythmie incontrôlée et un caractère réversible de la dysfonction ventriculaire lors de l'arrêt des troubles rythmiques (207). Bien que le premier cas de cardiopathie rythmique induite par la FA ait été mis en évidence il y a plus d'un siècle(208), son estimation épidémiologique au sein de la population présentant une FA n'est pas clairement établie. Plusieurs études suggèrent qu'un-quart à la moitié des IC en présence de FA répondent à la définition de cardiopathie rythmique (209, 210), alors qu'une étude basée sur des patients pris en charge pour ablation endocavitaire de FA n'établit la prévalence de cardiopathie rythmique qu'à seulement 3% (211). A noter que la cardiopathie rythmique peut survenir à partir de ventricules ne présentant aucune dysfonction systolo-diastolique, ou se surajouter à une cardiopathie existante.

1. 2. Aspect mécanistique

Plusieurs facteurs peuvent caractériser l'effet de la FA sur la survenue d'une cardiopathie rythmique. Différentes dysfonctions de la dépolarisation et de la fonction hémodynamique ventriculaire en cas de FA ont été mises en évidence tels que la fréquence ventriculaire élevée, irrégulière, le taux de charge en FA et la désynchronisation ventriculaire secondaire à un trouble conducteur atrio-ventriculaire fonctionnel, c'est-à-dire secondaire à la dépolarisation fréquente du tissu de conduction infra-nodal ou organique (212) (**Figure 1 - 9**).

L'ensemble de ces facteurs, présent lors d'une arythmie supra-ventriculaire comme la FA est responsable des différentes dysfonctions à l'échelle ultra-structurale. Ainsi, il existe un déséquilibre de la balance énergétique, responsable d'un mécanisme ischémique (213), des anomalies du métabolisme calcique, une augmentation du stress oxydatif (214) et une activation des systèmes neuro-hormonaux tels que le SNA et le SRAA (212).

Différentes conséquences structurelles et fonctionnelles sont alors objectivées à l'étage ventriculaire, avec une chronologie distincte : la dégradation de la fonction systolique ventriculaire gauche, objectivée par une diminution de la fraction d'éjection du ventricule gauche (FEVG) via les anomalies du métabolisme calcique, se manifeste précocement dans les modèles animaux, avant qu'une dilatation des cavités ventriculaires ne surviennent par rétention hydro-sodée (207). Le processus fibrotique semble arriver tardivement, et dans une moindre mesure, expliquant probablement le fait que la cardiopathie rythmique soit classiquement réversible.

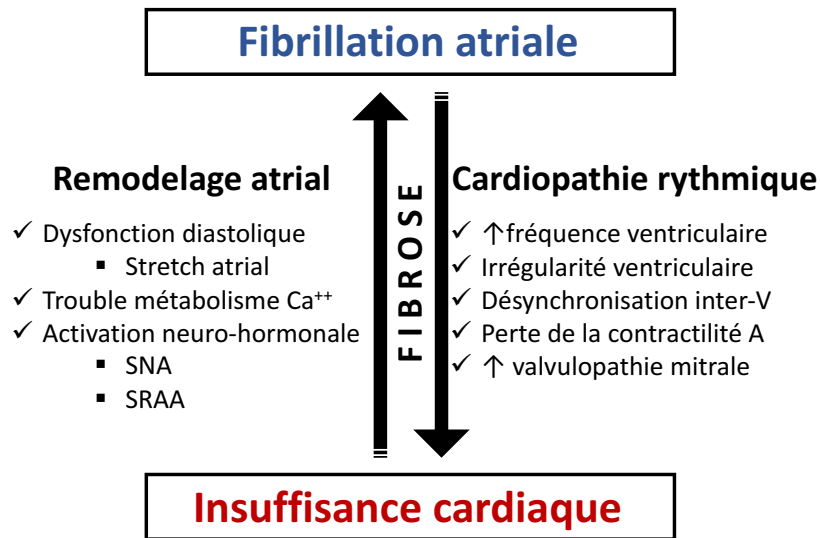


Figure 1 - 9. Approche mécanistique de l'interrelation entre fibrillation atriale et insuffisance cardiaque

2. Effets de la fréquence ventriculaire sur le remodelage atrial

Actuellement, peu de données sont disponibles sur l'effet propre de la fréquence élevée de la réponse ventriculaire en cas de FA d'une part, et de son irrégularité d'autre part (**Figure9**).

2. 1. Effets de la fréquence ventriculaire élevée

Concernant le caractère rapide de la réponse ventriculaire en cas de fibrillation atriale, son implication dans le remodelage atrial a été clairement identifiée. Ainsi, de nombreuses études utilisent expérimentalement une stimulation ventriculaire rapide et régulière. Celle-ci entraîne une IC par défaillance bi-ventriculaire sévère *via* une cardiopathie rythmique. Ainsi, une dysfonction systolique ventriculaire gauche, avec une fraction d'éjection inférieure à 30%, et diastolique sont objectivées. L'IC est à l'origine d'un substrat auriculaire unique : malgré une augmentation des périodes

réfractaires effectives, un remodelage structurel important avec une augmentation de la fibrose (215), une diminution de l'expression et de la fonction des connexines composant les jonctions communicantes (88) ainsi qu'une dilatation et une dysfonction contractile auriculaire gauche (216). Cependant, des données cliniques robustes permettent de moduler les données expérimentales (217) : le contrôle lâche de la fréquence ventriculaire, c'est-à-dire à une fréquence inférieure à 110 battements par minute (bpm) au repos, par rapport à un contrôle strict, c'est-à-dire à une fréquence inférieure 80 bpm, n'entraîne pas plus de décès d'origine cardiovasculaire et d'hospitalisation pour insuffisance cardiaque après 2 ans de suivi.

2. 2. Effets de la fréquence ventriculaire irrégulière

Actuellement, peu de données mécanistiques sont disponibles sur l'effet différentiel de la fréquence élevée de la réponse ventriculaire en cas de FA et de son irrégularité. Des données cliniques précisent cependant l'effet propre de l'irrégularité de la contraction ventriculaire au niveau hémodynamique. Il est établi que les changements d'hémodynamique battement à battement pendant la FA ne sont pas seulement dus à des changements des caractéristiques du remplissage ventriculaire gauche, mais fait également intervenir des modifications au niveau de la contractilité myocardique (218). De plus, pour une fréquence ventriculaire rapide identique établie à 100 bpm, le caractère irrégulier de la réponse ventriculaire est à l'origine d'une diminution statistiquement significative du débit cardiaque et des pressions auriculaires gauches, estimées par la pression artérielle pulmonaire d'occlusion, et auriculaires droites (219). Les données concernant l'effet de l'irrégularité sur la dysfonction systolique et les mécanismes cellulaires et ultra-structurels sont cependant frustrés. Mais les données expérimentales et cliniques concernant l'effet des ESV sur le

remodelage atrial peuvent, de manière indirecte, apporter des éléments de compréhension concernant le rôle de l'irrégularité ventriculaire sur le remodelage auriculaire. Cliniquement, la charge importante en ESV est associée à une augmentation du volume atrial indexé sur la surface corporelle (220). De plus, il existe une corrélation statistiquement significative et de manière indépendante entre charge en ESV et volume atrial. En l'absence d'anomalie structurelle cardiaque, une charge élevée d'ESV est associée à un nombre plus élevé d'arythmies supra-ventriculaires avec une augmentation concomitante du tonus sympathique (221). Expérimentalement, les ESV provoquent un trouble du métabolisme calcique au sein des cardiomyocytes ventriculaires en diminuant l'expression et la fonction de Cav1.2 (222) mais également en réduisant les courants repolarisants potassiques I_{to} et I_{K1} (223). Mais les mécanismes à l'échelle cellulaire à l'étage atrial ne sont pas actuellement clairement précisés.

3. Effets des thérapeutiques contrôlant la fréquence ventriculaire sur le remodelage atrial

3. 1. Effets des thérapeutiques pharmacologiques

Les trois principales classes médicamenteuses permettant de diminuer la fréquence ventriculaire lors de la FA par modulation des caractéristiques électrophysiologiques au sein du nœud atrio-ventriculaire pourraient avoir un rôle dans la mise en place et l'aggravation du remodelage atrial ou *a contrario* d'une propriété anti-remodelante. En effet, les molécules β -bloquantes présentent des caractéristiques anti-remodelantes électrophysiologiques avec une augmentation des périodes réfractaires, en inhibant les courants potassiques repolarisants I_{to} et I_{K1} notamment (224). De plus, des données expérimentales suggèrent un pouvoir pro-arythmogène des inhibiteurs calciques bradycardisants en diminuant la période réfractaire et le cycle de

la FA(225). Un effet pro-arythmique est également rapporté concernant la digoxine(226).

3. 2. Effets des thérapeutiques de stimulation ventriculaire

A - Approche clinique

Une stimulation ventriculaire droite permanente, associée à une modulation endocavitaire par radiofréquence du nœud atrio-ventriculaire, est actuellement indiquée en cas d'échec des thérapeutiques médicamenteuses visant à contrôler la fréquence ventriculaire en cas de FA. Cependant, cette thérapeutique n'est pas dénuée de conséquence au niveau du remodelage atrial.

Les effets indésirables reliés à la stimulation ventriculaire ont été décrits pour la première fois en 1969 (227) sous la dénomination de « syndrome du stimulateur cardiaque » (« pacemaker syndrome »), soit une décennie après la mise en place du premier stimulateur cardiaque pour bloc atrio-ventriculaire complet (228). Ce syndrome présente deux conséquences cliniques majeures : une diminution du débit cardiaque et l'induction d'un remodelage auriculaire à l'origine de tachycardies supra-ventriculaires. De nombreuses études observationnelles établissent l'association entre stimulation ventriculaire et l'induction de FA. Ainsi, cinq ans après l'implantation pour maladie sinusale, la FA a une prévalence de 6% pour les patients avec stimulation atriale *versus* 19% pour les patients avec stimulation ventriculaire (229). De plus, lorsqu'une stimulation ventriculaire est utilisée pour dysfonction sinusale, un taux de stimulation ventriculaire supérieur à la moitié du temps est associé à la survenue de FA dans 29% des cas après six ans de suivi, supérieur de huit points par rapport aux patients avec stimulation ventriculaire inférieure à 10% du suivi (230). Cette étude,

prospective et randomisée, indique que chaque pourcent de stimulation ventriculaire droite supplémentaire entraîne une augmentation de la prévalence de FA à hauteur de 0.7% au terme des six années du suivi. Sur une population ayant des antécédents de FA paroxystique, la stimulation ventriculaire est également à l'origine d'une progression de la maladie rythmique atriale en augmentant la charge en FA et en induisant le passage en FA persistante (231). De ce fait, les algorithmes de programmation des stimulateurs cardiaques implantables ont été mis au point afin de réduire la stimulation ventriculaire (232). La stratégie thérapeutique minimisant la stimulation ventriculaire associée à un traitement anti-tachycardique par stimulation atriale rapide tend à limiter le remodelage auriculaire (233). Premièrement par limitation du remodelage électrophysiologique en diminuant les accès de FA au cours du suivi. Deuxièmement par contrôle du remodelage structurel en augmentant la proportion de patients avec normalisation des dimensions auriculaires gauches. Un remodelage structurel auriculaire secondaire à la stimulation ventriculaire droite est ainsi cliniquement objectivé par augmentation du volume indexé de l'oreillette gauche et altération de sa fonction contractile par diminution de la fraction de vidange et l'altération du strain de sa paroi latérale (234).

B - La dissociation atrio-ventriculaire

D'un point de vue mécanistique, la vulnérabilité aux arythmies supra-ventriculaires induite par la stimulation ventriculaire droite est multifactorielle (235). Deux concepts physiopathologiques rentrent en ligne de compte : la désynchronisation atrio-ventriculaire et la désynchronisation inter-ventriculaire (**Figure 1 - 10**).

Tout d'abord, la dissociation atrio-ventriculaire en cas de stimulation ventriculaire peut être d'intensité variable. En effet, celle-ci est plus importante en présence d'une conduction rétrograde, induisant une contraction auriculaire avec un

délai trop court après la systole ventriculaire, celle-ci s'effectuant en période de fermeture de la valve mitrale (236). Mais la désynchronisation atrio-ventriculaire peut également être présente en l'absence de conduction rétrograde, par coïncidence inopportune d'une contraction atriale et d'une contraction ventriculaire dans un court intervalle. D'une part, la contraction atriale à valve mitrale fermée provoque un reflux sanguin vers les VP provoquant une distension et un remodelage de celles-ci. Ces altérations structurelles et fonctionnelles pourraient avoir un effet facilitateur sur la survenue de gâchettes arythmogéniques au sein des VP (237). De plus, la contraction auriculaire en l'absence d'ouverture de l'appareil mitral provoque une augmentation de la pression intra-atriale gauche, à l'origine d'une distension atriale. Ce stretch atrial est objectivé par l'augmentation des facteurs atriaux natriurétiques dans ces conditions (238). Le rôle du stretch auriculaire sur le remodelage auriculaire gauche a été précisé ces dernières années (239) : il comprend notamment l'induction de fibrose atriale, une hypertrophie cardiomyocytaire, des mécanismes apoptotiques et une dysfonction contractile.

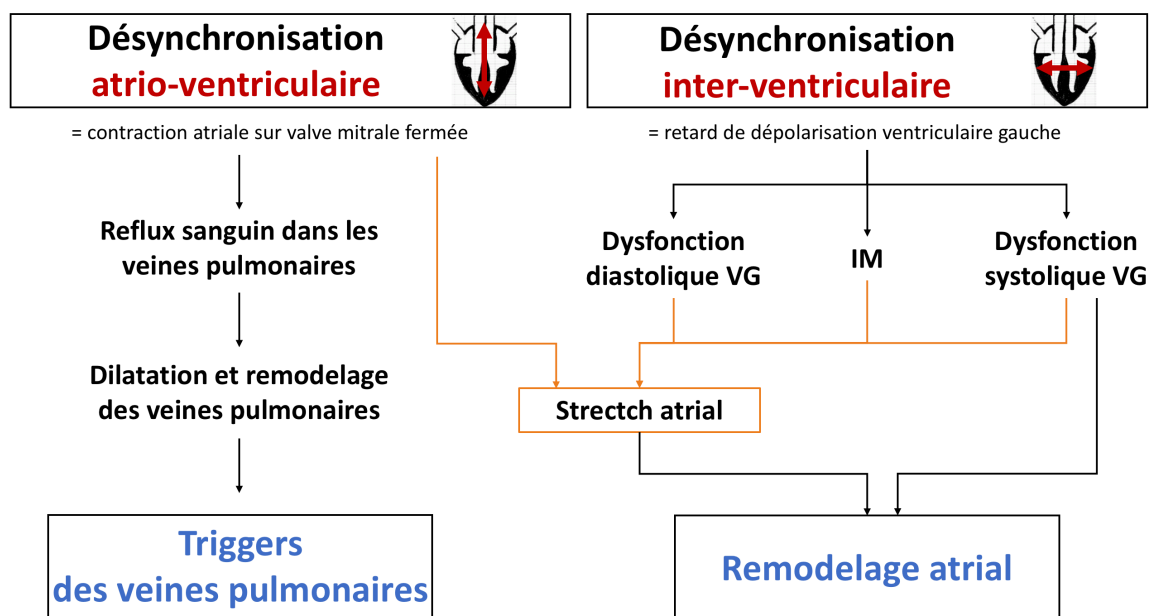


Figure 1 - 10. Approche mécanistique de l'implication de la stimulation ventriculaire comme substrat favorable à la fibrillation atriale

Des données cliniques viennent appuyer ce concept physiopathologique : la perte de la synchronisation ventriculaire est à l'origine d'un remodelage réversible : électrophysiologique avec une augmentation hétérogène des périodes réfractaires (240), structurelle avec une augmentation de la durée de l'onde P (240) et fonctionnelle avec une dysfonction contractile (241). Expérimentalement, la mise en place d'un modèle chronique caprin d'asynchronisme atrio-ventriculaire complet permet de préciser les mécanismes à l'origine du remodelage atrial (242). Après un mois de suivi, une dilatation et une dysfonction auriculaire sont objectivées. Au niveau électrophysiologique, une diminution hétérogène des vitesses de conduction est reportée, ainsi qu'une augmentation de la durée de FA induite. A l'échelle moléculaire, il existe dans ce contexte un trouble du métabolisme calcique avec une surcharge calcique cytosolique mais aucune anomalie ultra-structurelle n'est objectivée (243).

C - La dissociation inter-ventriculaire

Ensuite, la désynchronisation interventriculaire en cas de stimulation ventriculaire droite joue un rôle dans le développement du remodelage auriculaire. En effet, la stimulation ventriculaire droite apicale n'est pas physiologique car la dépolarisation intra-ventriculaire n'emprunte pas les voies de conduction physiologiques mais s'effectue sur le principe de proche en proche. Quel que soit la position de la sonde de stimulation au sein du myocarde ventriculaire, une désynchronisation interventriculaire est observée, dont la sévérité dépend de la proximité de la sonde par rapport aux voies de conduction (244). Différents mécanismes peuvent expliquer le rôle de la désynchronisation interventriculaire sur le remodelage et la perte de fonction auriculaire. Tout d'abord, une insuffisance mitrale fonctionnelle, hémodynamiquement significative peut être observée en cas de stimulation ventriculaire droite (245). De plus, la désynchronisation inter-ventriculaire

secondaire à la stimulation ventriculaire droite cause une contraction de la paroi septale de manière paradoxale. Deux conséquences en résultent : une altération de la fonction systolique régionale septale de 25% et ventriculaire gauche avec une réduction absolue de la FEVG de 8%, et une dysfonction diastolique avec diminution de la période de relaxation ventriculaire et augmentation des pressions de remplissage du ventricule gauche (246, 247). L'insuffisance mitrale, la dysfonction diastolique et systolique ventriculaire gauche sont à l'origine d'une augmentation du stretch auriculaire causant un remodelage atrial. Bien que les mécanismes en présence ne soient que partiellement compris, la dysfonction ventriculaire gauche systolique est à l'origine d'un substrat favorable à l'induction et au maintien de la FA *via* un processus fibrotique, un remodelage électrophysiologique propre et l'implication de facteurs neuro-hormonaux (248).

A noter que l'implication d'un mécanisme ischémique dans le remodelage atrial est également évoqué (237). En effet, en cas de stimulation ventriculaire, une diminution du débit coronaire et une augmentation du tonus sympathique sont à l'origine d'un déséquilibre de la balance perfusion-consommation au sein du myocarde (249).

Partie 5 - Objectifs et hypothèses de la présente étude

Le remodelage atrial, conduisant à la mise en place d'une cardiopathie atriale, semble donc être la pierre angulaire de l'induction et de la persistance des tachycardies supra-ventriculaires, notamment de la FA. La caractérisation structurale et ultra-structurale du remodelage atrial, qu'il soit électrique ou structurel, a été précisément effectuée ces dernières décennies. Cependant, la prise en charge diagnostique et thérapeutique de la FA n'a pas été transformée de manière significative, placée encore à l'heure actuelle sous le spectre de la prise en charge d'une maladie rythmique isolée. La prise en charge clinique de la cardiopathie atriale, dont la FA ne serait que son expression et sa complication électrophysiologique, n'est donc pas actuellement l'axe central d'intervention. Caractériser les déterminants du remodelage atrial et de ses effets pro-arythmiques en cas de FA semble donc indispensable afin d'individualiser les mécanismes mis en jeu lors du développement du remodelage atrial. Ceci afin d'identifier les points de levier cliniques permettant de moduler le remodelage atrial en cas de FA et ainsi améliorer la prise en charge des patients présentant une FA.

Bien que l'interrelation entre FA et FLA soit précisément caractérisée sur le plan épidémiologique, les mécanismes électrophysiologiques mis en jeu dans l'association de ces deux maladies rythmiques supraventriculaires ne sont pas clairement établis, que ce soit d'un point de vue fondamental ou clinique. En effet, la forte prévalence de la FA après traitement endocavitaire efficace du FLA par établissement d'une ligne de bloc de conduction au niveau de l'ICT suggère l'existence d'un remodelage atrial secondaire à la macro-réentrée atriale droite. Des données cliniques et fondamentales soutiennent cette hypothèse. Le premier axe de cette étude

a donc pour objectif de caractériser le remodelage atrial électrique et structurel induit par le FLA typique à l'aide d'un modèle chirurgical chronique canin.

Le remodelage atrial induit par la FA elle-même a été mis en évidence il y a plus de vingt ans au niveau du remodelage électrique, puis une caractérisation du remodelage structurel a été établie. D'autre part, la fonction ventriculaire semble avoir une implication dans le remodelage atrial à travers différentes situations cliniques telles que la dysfonction ventriculaire gauche, la cardiopathie rythmique ou la stimulation ventriculaire droite. Cependant, l'effet de la dépolarisation ventriculaire en cas de FA sur le remodelage atrial n'est pas clairement identifié. L'objectif du second axe de cette étude est de caractériser le rôle distinct de l'arythmie atriale et de la réponse ventriculaire rapide en cas de FA sur le remodelage atrial, comparativement à l'effet de la cardiopathie rythmique *via* un modèle chronique canin.

Le remodelage atrial jouant un rôle majeur dans l'initiation et le maintien de la FA, sa modulation semble être une clé de la prise en charge thérapeutique. Alors qu'un faisceau d'arguments cliniques et fondamentaux semble objectiver la réversibilité du remodelage atrial électrique, la régression du remodelage atrial structurel n'est pas certaine, aucune thérapeutique n'ayant pour l'heure démontré son efficacité. La modulation des déterminants du remodelage atrial électrique et structurel en amont de celui-ci semble donc être un axe thérapeutique pertinent. Tel que discuté précédemment, le SNA semble jouer un rôle substantiel dans la création et le développement du remodelage atrial en cas de FA. Le troisième axe de cette étude est d'évaluer l'effet d'une intervention pharmacologique visant à inhiber le relargage des neurotransmetteurs sympathiques, *via* l'administration d'un inhibiteur des canaux calciques de type N et L, la cilnidipine, sur le remodelage atrial électrique et structurel en cas de FA persistante, à l'aide d'un modèle chronique canin.

CHAPITRE 2 - Caractérisation du remodelage atrial induit par le flutter atrial et relation avec la fibrillation atriale

Mise en contexte

Bien que les données épidémiologiques établissent une association significative et bidirectionnelle entre FA et FLA, les mécanismes physiopathologiques mis en jeu dans l'inter-relation entre ces deux troubles du rythme supraventriculaire ne sont pas précisément établis. Considérant la forte prévalence de ces deux pathologies rythmiques, l'objectif de la présente étude était de caractériser le remodelage atrial secondaire au FLA, comparativement au remodelage induit par la FA avec ou sans substrat anatomique de FLA. Pour se faire, un modèle chirurgical de FLA par atriotomie droite a été utilisé, s'appuyant sur un modèle chronique canin avec un suivi de trois semaines.

*Guichard, J.-B., Qi, X., Xiong, F., L'Heureux, N., Hiram, R., Naud, P., Tardif, J.-C.,
Cartier, R., Da Costa, A., Nattel, S. (2019)*

***Characterisation of Atrial Flutter-Induced Atrial Remodeling in a Novel Chronic
Dog Model and Relationship to Atrial Fibrillation.***

(In preparation)

Contribution des auteurs

J.-B. G. a formulé l'hypothèse, conceptualisé l'étude et analysé les données. J.-B. G., N.L'H. et R.C. ont établi le modèle chirurgical de FLA. J.-B. G., X.Q. et P.N. ont conceptualisé les expériences in vitro mises en place au cours de l'étude. J.-B. G., F.X. et R.H. ont effectué les expériences primaires. S.N. a participé à la formulation de l'hypothèse, supervisé les travaux et discuté les résultats. S.N. et A.D.C. ont édité le document. Tous les auteurs approuvent la version finale du manuscrit ainsi que tous les aspects du travail.

Characterisation of Atrial Flutter-Induced Atrial Remodeling in a Novel Chronic Dog Model and Relationship to Atrial Fibrillation

Jean-Baptiste Guichard, MD^{1,2}, Xiaoyan Qi, PhD¹, Feng Xiong, PhD¹, Nathalie L'Heureux¹, Roddy Hiram, PhD¹, Patrice Naud, PhD¹, Jean-Claude Tardif, MD¹, Raymond Cartier¹, Antoine Da Costa, MD, PhD², Stanley Nattel, MD^{1,3,4,5}

¹Department of Medicine and Research Center Montreal Heart Institute and Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada; ²Department of Cardiology, University Hospital of Saint-Étienne, University Jean Monnet, Saint-Étienne, France; ³Department of Pharmacology and Therapeutics, McGill University Montreal, Canada; ⁴Institute of Pharmacology, West German Heart and Vascular Center, Faculty of Medicine, University Duisburg-Essen, Essen, Germany; ⁵IHU LIRYC and Fondation Bordeaux Université, Bordeaux, France.

Short title: Atrial Flutter-Induced Atrial Remodeling

Word count: 5414 words

Corresponding author: Stanley Nattel, MD, Department of Medicine and Research Center Montreal Heart Institute and Université de Montréal, 5000 Belanger St E, Montreal H1T 1C8, Quebec, Canada. E-mail : stanley.nattel@icm-mhi.org; Phone : 514-376-3330 ext 3587 ; Fax: 514-593-2493; Twitter handle: @StanleyNattel

Abstract

Background– Atrial flutter (AFL) is associated with atrial remodeling, but no experimental studies have addressed the structural remodeling effects of sustained AFL with or without atrial fibrillation (AF).

Objective – To assess the arrhythmia-induced atrial remodeling secondary to sustained AFL and/or AF.

Methods – Intercaval radiofrequency-lesions were applied to create isthmus-dependent AFL in dogs, confirmed by endocavity mapping. Four groups (6 dogs/group) were followed for 3 weeks: 1) AFL; 2) AF maintained by 600-bpm atrial tachypacing; 3) AF superimposed on an AFL-substrate (AF+AFLs); 4) Sinus rhythm with AFL-substrate (SR+AFLs). All dogs had atrioventricular-node ablation and ventricular pacemakers at 80-bpm to control ventricular rate. AFL was induced by burst pacing and re-induced if spontaneous conversion occurred.

Results – Monitoring confirmed spontaneous AFL-maintenance >99% of the time over the last 15 days in AFL-dogs. At terminal open-chest study, left-atrial (LA) effective refractory period was significantly and similarly reduced in AFL, AF+AFLs and AF animals, while AF-vulnerability to induction by single extrastimuli increased equally. Induced-AF duration after AFL-ablation increased significantly in AF+AFLs and AF, but not in AFL+AFLs, dogs. Atrial tachyarrhythmias differed in AF+AFLs vs AFL-dogs: AF+AFLs-dogs had shorter cycle-lengths and substantial irregularity. LA-volume increased in AF+AFLs and AF, but not in AFL-dogs, compared to SR+AFLs. Optical mapping showed significant conduction-slowness in AF+AFLs and AF groups but none in AFL, paralleling atrial fibrosis and collagen-gene upregulation. Left-ventricular function did not change in any group.

Conclusions – Sustained AFL causes atrial repolarization-changes like those in AF, but unlike AF does not induce structural remodeling. When AF is superimposed on an AFL-substrate, substantial structural remodeling occurs. These results provide novel insights into AFL-induced remodeling and suggest that early intervention may be important to prevent irreversible fibrosis when AF intervenes in an AFL-patient.

Key words: atrial fibrillation, atrial flutter, atrial remodeling, fibrosis

Introduction

Atrial flutter (AFL) is a relatively common macroreentrant atrial arrhythmia. Patients with AFL often experience atrial fibrillation (AF) at some point in their natural history and at times may move back and forth between them. AF and AFL are known to share many pathophysiological features, both in terms of underlying pathology and of dynamic electrophysiological interaction (1, 2). AF induces complex atrial remodeling that promotes its own recurrence and maintenance, with both electrical and structural components (3, 4). AFL also induces atrial remodeling, causing action-potential duration (APD) and effective refractory period (ERP) abbreviation in patients similar to characteristic changes caused by AF (5, 6).

In addition to the short-term APD-ERP changes caused by AF, longer-term AF promotes the development of atrial fibrotic remodeling (7, 8), likely via profibrotic consequences of molecules secreted by atrial cardiomyocytes activated at increased rates (9). Whether AFL is capable of promoting structural remodeling is unknown. Studies of AFL patients remote from arrhythmia episodes show extensive structural and conduction abnormalities (10), but whether these are due to the underlying atrial pathology causing AFL or to arrhythmia-induced structural remodeling that fails to reverse is unknown.

Frame et al. initially developed a dog model of AFL, using a Y-shaped lesion to permit anatomically-based re-entry around the tricuspid valve (11) and used it extensively to study the mechanisms and pharmacological responses of AFL. The model was subsequently employed to produce sustained AFL in sheep (12), demonstrating ERP-abbreviation and increased AF-susceptibility after 28 days of arrhythmia. However, the authors did not investigate whether sustained AFL leads to

structural or molecular remodeling. Furthermore, patients with an AFL-substrate often manifest AF, and appear to have more extra-pulmonary vein AF-sources than AF-patients without an associated AFL-substrate (13). Whether the remodeling associated with AF and subsequent arrhythmias differs depending on the presence of an AFL-substrate is unknown.

The present study was designed to develop and apply a chronic dog model of AFL to determine: 1) Whether sustained AFL can cause structural remodeling of the type caused by sustained AF; 2) Whether the remodeling caused by AF in the presence of an AFL-substrate causes different changes and/or arrhythmic predisposition from AFL maintained by an AFL-substrate or AF without an AFL-substrate; 3) The effects of AFL-substrate ablation on arrhythmia susceptibility in the presence and absence of tachycardia-remodeling induced by sustained AFL or AF. All experimental groups were subjected to chronic atrioventricular block via catheter ablation, along with the insertion of a VVI pacemaker at 80 bpm, to ensure that differences in ventricular response-rate and associated ventricular remodeling did not influence the outcome.

Methods

Animal model

All animal-handling procedures were approved by the Montreal Heart Institute Animal Research Ethics Committee and conformed to the guidelines of the Canadian Council on Animal Care.

Dogs were anesthetized for the initial procedure with ketamine (5.3 mg/kg, intravenous), diazepam (0.25 mg/kg, intravenous), and isoflurane (1.5%), intubated, and ventilated. A pacing lead was inserted into the right ventricle (RV) via the right jugular vein under fluoroscopic guidance and attached to a VVI subcutaneous pacemaker implanted in the neck set to pace the right ventricle (RV) in demand mode at 80 bpm. A quadripolar catheter was then inserted across the tricuspid valve *via* the right femoral vein under fluoroscopic guidance. Radiofrequency (RF) energy was applied at the site of maximum His-potential amplitude to achieve complete atrioventricular block. Open-chest surgery under aseptic conditions was then performed to establish a substrate for stable maintenance of AFL (**Figure 2 - 1. A**).

After right anterior thoracotomy between the 5th and 6th rib, right posterior pericardiotomy was performed. Access to the right atrium (RA) was achieved by a small anterolateral puncture. One blade of an Atricure clamp, a dual-electrode bipolar radiofrequency-ablation device (Atricure, Cincinnati, OH) was then introduced into the RA. A transmural line of block was achieved by clamping the device blades on adjacent endocardial and epicardial surfaces, and applying RF energy between them. A Y-shaped RA lesion was created between the ostium of the superior vena cava (SVC), the ostium of the inferior vena cava (IVC) and the ostium of the RA appendage (RAA), as shown shown schematically in **Figure 2 - 1. A** and illustrated by the original

photograph in **Figure 2 - 1. B**. The RA-puncture was then closed with a purse-string suture, the pericardium was sewn shut, the chest closed in layers and the pneumothorax evacuated.

Finally, a pacing lead was inserted via the left jugular vein into the RAA under fluoroscopic guidance and attached to a subcutaneous pacemaker implanted in the neck. Among dogs with an anatomic AFL substrate, an additional pacing lead was inserted into the RAA via the left jugular vein under fluoroscopic guidance and exteriorized in the neck in order to re-induce AFL in AFL-substrate+AFL dogs if AFL spontaneously terminated. Analgesics (subcutaneous buprenorphine 0.02 mg/kg/day for 3 days, oral meloxicam 0.01 mg/kg for 7 days) and prophylactic cefazolin (60 mg/kg iv once-daily for 3 days) were routinely provided postoperatively.

Experimental groups

Twenty-four mongrel dogs (weight, 25.6-40.6 kg; 6/group) were studied in the following groups (**Figure 2 - 2**). (1) Sinus rhythm (SR)+AFL-substrate group, with AFL-substrate and SR during 3-week follow-up (which served as a sham control); (2) AFL+AFL-substrate group, with AFL-substrate and AFL maintenance during 3-week follow-up; (3) AF+AFL-substrate group, with AFL-substrate and AF maintained continuously by 600 bpm atrial tachypacing (A-TP) during 3-week follow-up; (4) AF-only group, without AFL-substrate and AF maintained by 600 bpm A-TP during 3-week follow-up. A 5-day postoperative rest period was allowed before the initiation of AT-P. In addition, 6 acute control dogs were studied, primarily to assess differences from the electrophysiological properties of AFL-substrate+SR dogs, who had an AFL-substrate but no remodeling.

Chronic atrial flutter model

AFL was induced by 10 Hz RA-pacing for 15 seconds in in AFL+AFL-substrate dogs. Burst-pacing induced AFL, which was generally stable and spontaneously maintained for days to weeks. The surface electrocardiogram (ECG) was monitored twice-daily to confirm AFL-maintenance. AFL with typical EKG features of AFL (**Figure 2 - 1. C**) was detected on $99.1\pm 1.4\%$ of the EKG-recordings in AFL+AFL-substrate dogs during the last 15 days of the follow-up period.

At the end of the 3-week follow-up, in vivo endocavity mapping (EnSite 3D-mapping system; St. Jude Medical, St. Paul, MN) was performed on 4 dogs each from SR+AFL-substrate-, AFL+AFL-substrate, and AF+AFL-substrate groups. Dogs were anesthetized with intravenous ketamine (5.3 mg/kg), intravenous diazepam (0.25 mg/kg) and inhaled isoflurane (1.5%), intubated, and ventilated. Double-loop macroreentry in a figure-of-8 fashion was observed in all AFL-substrate+AFL dogs (**Figure 2 - 1. D**). One limb of the circuit was located around the tricuspid valve and the other around the surgically-induced RA lateral lesion. The flutter cycle-length averaged 168 ± 17 ms (range 136-192 ms) and endocavity mapping always revealed activity over $>80\%$ of the flutter-cycle. The induced tachyarrhythmia involved the cavotricuspid isthmus (CTI): the post-pacing interval following overdrive pacing adjacent to the CTI was always <20 ms (mean 11.1 ± 5.3 ms) greater than the tachycardia cycle length, suggesting that macroreentry was CTI-dependant.

Open-chest electrophysiological study (EPS)

Dogs were anesthetized with ketamine (5.3 mg/kg, intravenous), diazepam (0.25 mg/kg, intravenous), and isoflurane (1.5%), intubated, and mechanically

ventilated. Body temperature was maintained at 37°C. The atrial pacemaker was deactivated and a median sternotomy performed. In dogs with sustained AF/AFL despite atrial pacemaker-cessation, AF/AFL was direct-current cardioverted for the EPS (2, 1, 1 and 0 dogs required cardioversion respectively in AF+AFL, AF, AFL and SR+AFLs groups). One bipolar electrode was hooked into the RAA for recording, a second into the left-atrial (LA) appendage for stimulation.

The LA ERP was measured at a basic cycle length of 300 ms with 8 basic (S1) stimuli, followed by an S2 with 5-ms decrements (all pulses twice-threshold, 2-ms), as the longest S1S2 failing to capture. The vulnerability to tachyarrhythmia induction at each site was defined by the ability of a single S2 to induce, in a reproducible fashion, AF that lasted >1 second. Overall vulnerability in each dog was defined as the percentage of 6 pacing sites (LA appendage, LA inferior and superior wall, RAA, RA inferior and superior wall) at which AF was inducible. To measure arrhythmia duration, tachyarrhythmia was induced with 2-s burst pacing (10-Hz, 4×threshold-current). Mean tachyarrhythmia duration in each dog was based on 10 inductions. Prolonged arrhythmia (>20 min) was terminated by direct-current cardioversion. A 20-min rest period was allowed before continuing measurements. If prolonged arrhythmia was induced twice, no further AF induction was performed. Two EPSs were performed for each dog with an AFL-substrate: one before and one after elimination of the macroreentry circuit by placing ligatures across the CTI and posterolateral RA-wall.

Echocardiography

Transthoracic echocardiography was performed at baseline and on the last study day prior to euthanasia, with an M3S probe (2.0-4.3 Megahertz) and a Vivid 7 Dimension system (GE Healthcare Ultrasound, Horten, Norway) under sedation with

acepromazine (0.07 mg/kg i.m.). Left ventricular (LV) and LA apical 2 and 4 chamber views were recorded. The biplane Simpson method was used to determine LV volumes, LV ejection fraction (LVEF), LA volumes and LA emptying fraction. The average of three to six cardiac cycles was used for each measurement, with the operator blinded to group assignment.

Optical mapping

The LA was dissected free and perfused through its coronary artery with Krebs solution (mM: 120 NaCl, 4 KCl, 1.2 MgSO₄ 0.7, 1.2 KH₂PO₄, 25 NaHCO₃, 5.5 glucose, 1.25 CaCl₂, 95% O₂/5% CO₂) at 30 mL/min and 37°C. Any leak from arterial branches was ligated with silk thread to maintain adequate perfusion. After 30 minutes for stabilization and electrical/mechanical uncoupling with blebbistatin (15 µM), the heart was loaded with di-4-ANEPPS (10 M, 0.1 mL, Biotium, Inc., Hayward, CA). A charge-coupled device (CardioCCD, RedShirtImaging, LLC, Decatur, GA) was used to record LA free wall fluorescence at 2 kHz focused on a 15x15-mm square region. Bipolar electrodes were used to pace the LA appendage. Optical maps were obtained during and after 1.5×threshold current 2-ms stimulation at a cycle length of 300 ms. Conduction velocity (CV) and APD data were analyzed with custom-written software algorithms.

Real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qPCR)

Isolated dog LA-samples were homogenized in a lysis buffer, and RNA was isolated with Nucleospin RNA II (Macherey Nagel, Düren, Germany), including DNase treatment to prevent genomic contamination. Messenger RNAs (mRNAs) were reverse-transcribed with the High-Capacity Reverse Transcription Kit (Applied

Biosystems, Foster City, CA). Quantitative PCR was performed with TaqMan probes and primers from Applied Biosystems for housekeeping genes HPRT and β 2-microglobulin, as well as for *KCNJ2*, *KCND3*, collagen-1 (*COL1A1*), and collagen-3 (*COL3A1*). SyBr green primers were used to quantify SCN5A, L-type calcium-channels (*CACNA1C* and *CACNA1D*), Kv7.1 (*KCNQ1* and *KCNE1*), *KCNIP2*, *KCNH2*, *KCNJ3*, *KCNJ5*, connexin-43 (*GJA1*) and connexin-40 (*GJA5*). The geometric mean expression of HPRT and β 2-microglobulin was used for normalization. qPCR reactions were performed with Taqman Gene Expression Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA) on a Stratagene MX3000. Gene-expression values were calculated with the $2^{-\Delta Ct}$ method.

Western blot

Protein samples were separated by electrophoresis on 4-20% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels and transferred electrophoretically onto polyvinylidene difluoride membranes. Membranes were blocked in a Tris-buffered saline (TBS) containing 0.2% (volume/volume) Tween-20 and 5% (weight/volume) bovine serum albumin (BSA), and incubated overnight at 4°C with primary antibodies diluted in TBS containing 0.2% Tween-20 and 1% BSA. After washing with TBS-Tween/1% BSA, membranes were hybridized with horseradish peroxidase-conjugated secondary antibody. Immunoreactive bands were detected by electrochemiluminescence with BioMax films (Sigma-Aldrich, San Luis, MO). Protein quantification was obtained with Quantity One software (Bio-Rad, Hercules, CA). All expression data are relative to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase staining for the same samples on the same gels. Antibodies used were: GJA1 (Cx43: AB1727, Merck Millipore, Burlington,

MA), P-Cx43(Ser368) (48-3000, ThermoFischer Scientific, Waltham, MA), GJA5 (Cx40: 36-4900, Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA).

Histology

Sections (6 μm) were cut at room temperature and stained with Masson's Trichrome. Stained images were digitized and the fibrotic area was analyzed with Image Pro 9.3 (Media Cybernetics, Rockville, MD). LA-fibrosis was quantified by an observer blinded to group and expressed as percent cross-sectional area.

Data analysis

Continuous variables are expressed as mean \pm SEM, unless otherwise stated. Multiple-group non-repeated measures comparisons were obtained with 1-way ANOVA and Tukey tests. Repeated-measures analyses were performed for normally distributed data with 2-way ANOVA and Tukey tests. Distribution normality was tested with a Shapiro-Wilk test. Two-tailed $P < 0.05$ indicated statistical significance. The authors had full access to and take responsibility for the integrity of the data. All authors have read and agree to the manuscript as written.

Results

Electrophysiologic changes

All dog-groups with 21-day tachyarrhythmia showed significantly reduced effective refractory periods (ERPs) (**Figure 2 - 3. A**). Vulnerability to induction of any atrial tachyarrhythmia (whether AF or AFL) was similarly increased in AFL-substrate+AFL, AFL-substrate+AF and AF groups compared to AFL-substrate+SR (**Figure 2 - 3. B**). Vulnerability to tachyarrhythmia-induction remained elevated after AFL-substrate ablation in both AFL-substrate+AFL and AFL-substrate+AF groups. This finding contrasted with the effect of ablation on the duration of induced tachyarrhythmia in AFL-substrate groups (**Figure 2 - 3. C**). Whereas all AFL-substrate dogs showed inducible sustained AFL prior to substrate-ablation, interruption of the AFL-circuit dramatically reduced tachyarrhythmia duration in AFL-substrate+AFL and AFL-substrate+SR groups. For AFL-substrate dogs that had been kept in AF by tachypacing for 3 weeks, tachyarrhythmia was maintained spontaneously for over 20 minutes in all dogs prior to AFL-substrate interruption but in contrast to AFL-substrate+AFL dogs, tachyarrhythmia duration did not decrease significantly after AFL-substrate ablation (**Figure 2 - 3. C**). No electrophysiological differences were noticed between AFL-substrate+SR and acute control dogs, except for the inducibility of sustained AFL in the presence of the AFL-substrate in AFL-substrate+SR dogs (**Online Figure 2 - 1**).

Whereas **Figure 2 - 3. C** shows atrial tachyarrhythmia vulnerability independently of whether the induced arrhythmia was AFL or AF, **Figure 2 - 3. D** shows the inducibility of AF only.

The presence of an AFL-substrate was not associated with AF inducibility in the absence of tachyarrhythmic remodeling. AF-inducibility in AFL-substrate+AFL dogs was significantly greater than in AFL-substrate+SR dogs, reflecting the effect of tachycardia-induced remodeling, but quantitatively less ($P=0.08$) than in AFL-substrate+AF dogs. For atrial tachyarrhythmia induced in the presence of the AFL substrate, the stability of the arrhythmia was the same among all AFL-substrate groups (SD cycle length among AFL-substrate+SR-dogs=5.4 and AFL-substrate+AFL-dogs=4.9) but the tachyarrhythmia cycle length in dogs subjected to 3 week-AF was 30% shorter than after 3 week-exposure to AFL or SR (**Figure 2 - 4. A**), reflecting the mixed fibrillo-flutter pattern of arrhythmia in the AFL-substrate+AF dogs (**Figure 2 - 4. B**) with a higher cycle length variability (SD cycle length in AFL-substrate+AF=10.4) but smaller than AF dogs (SD=18.2).

Hemodynamic changes

AFL-substrate+AF and AF-dogs showed significant increases in LA volume compared to AFL-substrate+SR, whereas AFL-substrate+AFL dogs did not show a significant increase (**Figure 2 - 5. A**). AF-dogs and AFL-substrate+AFL dogs showed a significantly reduced LA emptying fraction (**Figure 2 - 5. B**). None of the tachyarrhythmia dogs (whether maintained in AFL or in AF) showed significant LVEF changes compared to AFL-substrate+SR (**Figure 2 - 5. C**).

Ex vivo electrophysiologic changes revealed by optical mapping

Ex-vivo study and optical mapping were performed in all groups shown in **Figure 2 - 2**, with the results illustrated in **Figure 2 - 6**. No conduction velocity differences were found between AFL-substrate+SR- and AFL-substrate+AFL groups,

but there was a significant reduction (by ~25%) in conduction velocity for AFL-substrate+AF and AF groups (**Figures 2 - 6. A and B**). AFL-substrate+AFL, AFL-substrate+AF and AF dogs all showed significant decreases in APD50, 80 and 90 compared to AFL-substrate+SR dogs (**Figure 2 - 6. C**), consistent with the in vivo ERP data.

Differences in factors determining conduction velocity

Examples of Masson-trichrome stained atrial-tissue sections from each group are shown in **Figure 2 - 7. A**. Fibrous-tissue content appears to be increased in the AFL-substrate+AF- and AF-samples. **Figure 2 - 7. B** confirms this impression, with a significant, 4-fold increase in atrial fibrous-tissue content in AFL-substrate+AF and AF dogs compared to AFL-substrate+SR- and AFL-substrate+AFL dogs. Collagen-gene expression was enhanced in AFL-substrate+AF and AF dogs for collagen 1 and 3 compared to AFL-substrate+AFL dogs (**Figure 2 - 7. C**).

Changes in connexin expression are shown in **Online Figures 2 - 2. A-C**. No significant changes in *GJA1* mRNA expression, total connexin-43 and phosphorylated connexin-43 expression were found (**Online Figures 2 - 2. A and B**). Connexin-40 (*GJA5*) mRNA and protein were only downregulated in the AF-group, and not in groups with AFL-substrate, compared to AFL-substrate+SR group (**Online Figures 2 - 2. A and C**).

Online Figure 2 -3 shows the mRNA expression data for a wide range of cardiac ion-channel subunits. SCN5A mRNA expression was significantly decreased in AF dogs versus AFL-substrate+SR dogs (**Online Figure 2 - 3. A**). AFL-substrate+AF dogs also showed quantitatively smaller SCN5A expression, without statistical significance. No significant changes relative to AFL-substrate+SR dogs were

found for mRNA expression of calcium (**Online Figure 2 - 3. B**) or potassium channel subunits (**Online Figure 2 - 3. C**).

Discussion

Main findings

We have found that sustained AFL induces atrial refractory period and APD abbreviation similar to that caused by AF, along with significantly enhanced vulnerability to atrial tachyarrhythmia induction by atrial extrasystoles. However, unlike the atrial-remodeling effect of sustained AF, in the presence or absence of an AFL-substrate, AFL alone did not cause atrial fibrosis, slow atrial conduction or increase the sustainability of AF.

Comparison to previous studies of atrial remodeling

The literature contains extensive information about AF-associated remodeling (13). Sustained AF abbreviates atrial APD and ERP, by a combination of effects on atrial K^+ - and Ca^{2+} -currents, and ERP-changes are closely linked to increased vulnerability to AF-induction by atrial premature beats (13). In addition, AF is closely linked to atrial fibrosis, although the evidence that AF itself causes fibrosis in the absence of LV-function changes is somewhat less clear (13). Much less is known about the atrial remodeling caused by AFL. Short episodes (average duration 8.6 minutes) of AFL reduce atrial ERP, with the changes reversing rapidly (within 10 minutes) after rhythm reversion (6). Chronic AFL (mean duration 17 months) also showed ERP-abbreviation, which was much slower to reverse, with reversal noted 30 days after conversion to sinus rhythm (6). The monophasic-APD changes after conversion to sinus rhythm of chronic AFL are quantitatively similar to those with AF (5). Atrial tachypacing at a rate similar to that of AFL in man (300 bpm) produces atrial ERP-shortening similar to that caused by a rate that reproduces AF-induced ERP-

remodeling, 400 bpm (14). Only one experimental study has examined the atrial remodeling caused by sustained AFL (12). Morton et al studied AFL in sheep, induced by a surgical Y-shaped lesion similar to the substrate that we studied and maintained for a period of 28 days. They noted a marked and rapid decrease in atrial ERP, which was statistically significant within 3 days, reaching an approximately 45%-decrease at 28 days (12). Conduction-velocity changed more slowly, approaching steady-state (a 28%-decrease) between 14 and 28 days (12). They did not compare the changes to those caused by AF, did not assess structural remodeling and did not examine the effects of AF superimposed on an AFL-substrate.

Our study is the first to compare the effects of sustained AFL on atrial electrophysiology and structure, to compare the changes to those produced by AF and to study the effects of AF occurring in the presence of a structural substrate for AF. We found that AFL and AF produced binary remodeling effects- while AFL-induced remodeling fully resembled that caused by AF on atrial ERP and atrial vulnerability, only AF caused significant structural remodeling and enhanced AF-sustainability (whether in the absence or presence of an AFL-substrate). When sustained AF was superimposed on an underlying AFL-substrate, the induced tachyarrhythmia had features intermediate between those of AFL and AF (**Figure 2 - 4**), with greater regularity than AF but a significantly shorter cycle-length and greater irregularity than AFL induced with an AFL-substrate and AFL-induced remodeling. Similarly, only AF (whether in the absence or presence of an AFL-substrate) produced significant LA-enlargement. Of note, the significant LA fibrosis (**Figure 2 - 7**) and conduction-slowing (**Figure 2 - 6**) caused by AF occurred in the absence of any LV-dysfunction (**Figure 2 - 5. C**), in agreement with experimental data suggesting that rapid atrial-cardiomyocyte firing can activate atrial fibroblasts directly by secreting profibrotic molecules (9).

Prior studies of AF-associated remodeling have suggested a variety of mechanisms that may contribute to conduction-slowing. These include atrial fibrosis (15), connexin-changes (15–17) and Na⁺-channel downregulation (18). In the present study, significant Na⁺-channel expression-changes occurred exclusively in the AF-only dogs (**Online Figure 2 - 3. A**), as did connexin-40 downregulation (**Online Figure 2 - 2. C**); connexin-43 was not significantly altered in any group (**Figure 2B**), although a trend to decreased phospho-connexin-43 was seen in AF-only dogs. None of these changes paralleled those in conduction, whereas clear atrial fibrosis and collagen-gene upregulation occurred only in AFL-substrate+AFL and AF dogs (**Figure 2 -7**), closely paralleling the changes in conduction-velocity (**Figure 2 - 6**) and suggesting a primary role for atrial fibrosis in the latter.

Consideration of the model

We used an approach similar to that originally described by Frame et al to create an anatomical substrate for AFL in acute experiments (11) and later applied by Morton et al (12) to induce sustained AFL in sheep (12). We documented the responsible macroreentry circuit with optical mapping and found that AFL was sustained in AFL-substrate+AFL dogs without the need for reinduction. We used radiofrequency-induced atrioventricular block and ventricular demand pacing at 80 bpm to preclude any possibility of tachycardiomyopathy. While this approach produces atrioventricular dissociation, which could result in atrial remodeling as previously reported in a goat model (19), as no differences were seen in atrial vulnerability, LA-ERP, or the duration of atrial tachyarrhythmia (after ablation of the flutter substrate) between the AFL-substrate+SR group (followed for 3 weeks in sinus rhythm with atrioventricular-block and ventricular pacing) and acute control dogs (**Online Figure 2 - 1**).

Novel elements and potential significance

The present study is the first to examine atrial electrical and structural remodeling in a chronic model of AFL, to compare these to the results of electrically-maintained AF for the same period and to analyze the results of AF-induced remodeling superimposed on an AFL-substrate as would occur in AFL-patients that develop AF. AFL-induced remodeling differed from that caused by AF (with or without an AFL-substrate) by failing to cause atrial fibrosis or collagen-gene upregulation. This finding suggests that the extensive right-atrial conduction disturbances in and evidence of scarring seen in AFL patients (10, 20) are likely due to the atrial cardiomyopathy causing AFL rather than due to the AFL itself. Our findings may also have therapeutic implications. Since AF-associated fibrosis appears to be largely irreversible (15, 21, 22) it may be important to detect AF occurring in AFL patients and intervene early to prevent the progression of fibrosis due to AF-induced structural remodeling, which might prevent effective therapy by catheter ablation.

Conclusions

We have used a chronic dog model of sustained AFL to probe the atrial remodeling associated with an AFL-substrate, depending on whether the associated rhythm is sinus, AFL or AF, and to compare this to the remodeling caused by AF alone. Sustained AFL causes refractory-period and action-potential duration abbreviation like that of AF, along with enhanced atrial vulnerability to extrastimulation, but unlike AF does not induce structural remodeling. When AF is superimposed on an AFL-substrate, substantial structural remodeling occurs. These results provide new insights into AFL-induced remodeling and suggest that early intervention may be important to prevent further irreversible atrial fibrosis when AF occurs in an AFL-patient.

Acknowledgements

The authors thank Jennifer Bacchi for secretarial help with the manuscript, and Chantal St-Cyr for technical assistance.

Funding sources

The Canadian Institutes of Health Research (Foundation Grant 148401) and the Heart and Stroke Foundation of Canada (G-16-00012708).

Conflict of Interest

Dr. Guichard received fellowship support from Abbott. The other authors have no potential conflicts to disclose.

References

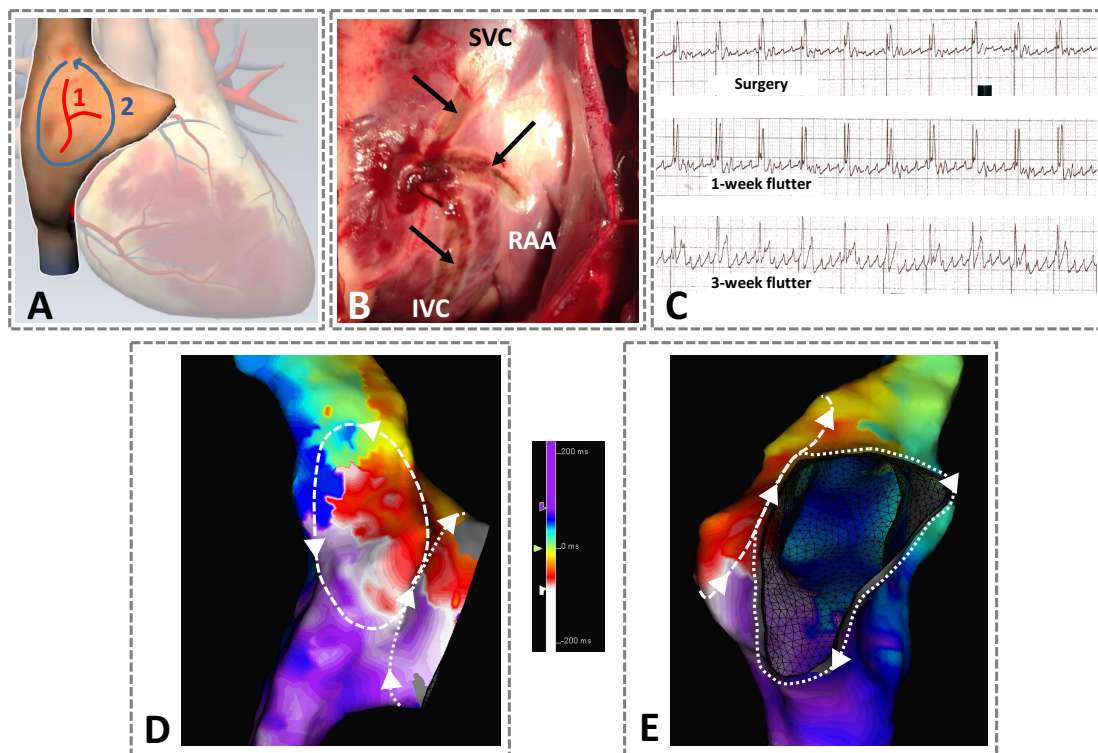
1. Manolis AS. Contemporary Diagnosis and Management of Atrial Flutter: A Continuum of Atrial Fibrillation and Vice Versa? *Cardiol. Rev.* 2017;25:289–297.
2. Waldo AL. Atrial fibrillation and atrial flutter: Two sides of the same coin! *Int. J. Cardiol.* 2017;240:251–252.
3. Nattel S, Burstein B, Dobrev D. Atrial remodeling and atrial fibrillation: mechanisms and implications. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2008;1:62–73.
4. Schotten U, Verheule S, Kirchhof P, Goette A. Pathophysiological mechanisms of atrial fibrillation: a translational appraisal. *Physiol. Rev.* 2011;91:265–325.
5. Franz MR, Karasik PL, Li C, Moubarak J, Chavez M. Electrical remodeling of the human atrium: similar effects in patients with chronic atrial fibrillation and atrial flutter. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1997;30:1785–1792.
6. Sparks PB, Jayaprakash S, Vohra JK, Kalman JM. Electrical remodeling of the atria associated with paroxysmal and chronic atrial flutter. *Circulation* 2000;102:1807–1813.
7. Avitall B, Bi J, Mykytsey A, Chicos A. Atrial and ventricular fibrosis induced by atrial fibrillation: evidence to support early rhythm control. *Heart Rhythm* 2008;5:839–845.
8. Martins RP, Kaur K, Hwang E, et al. Dominant frequency increase rate predicts transition from paroxysmal to long-term persistent atrial fibrillation. *Circulation* 2014;129:1472–1482.
9. Burstein B, Qi X-Y, Yeh Y-H, Calderone A, Nattel S. Atrial cardiomyocyte tachycardia alters cardiac fibroblast function: a novel consideration in atrial remodeling. *Cardiovasc. Res.* 2007;76:442–452.
10. Stiles MK, Wong CX, John B, et al. Characterization of atrial remodeling studied

- remote from episodes of typical atrial flutter. *Am. J. Cardiol.* 2010;106:528–534.
11. Frame LH, Page RL, Hoffman BF. Atrial reentry around an anatomic barrier with a partially refractory excitable gap. A canine model of atrial flutter. *Circ. Res.* 1986;58:495–511.
 12. Morton JB, Byrne MJ, Power JM, Raman J, Kalman JM. Electrical remodeling of the atrium in an anatomic model of atrial flutter: relationship between substrate and triggers for conversion to atrial fibrillation. *Circulation* 2002;105:258–264.
 13. Nattel S, Harada M. Atrial remodeling and atrial fibrillation: recent advances and translational perspectives. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014;63:2335–2345.
 14. Shiroshita-Takeshita A, Mitamura H, Ogawa S, Nattel S. Rate-dependence of atrial tachycardia effects on atrial refractoriness and atrial fibrillation maintenance. *Cardiovasc. Res.* 2009;81:90–97.
 15. Burstein B, Comtois P, Michael G, et al. Changes in connexin expression and the atrial fibrillation substrate in congestive heart failure. *Circ. Res.* 2009;105:1213–1222.
 16. Igarashi T, Finet JE, Takeuchi A, et al. Connexin gene transfer preserves conduction velocity and prevents atrial fibrillation. *Circulation* 2012;125:216–225.
 17. Bikou O, Thomas D, Trappe K, et al. Connexin 43 gene therapy prevents persistent atrial fibrillation in a porcine model. *Cardiovasc. Res.* 2011;92:218–225.
 18. Gaspo R, Bosch RF, Bou-Abboud E, Nattel S. Tachycardia-induced changes in Na⁺ current in a chronic dog model of atrial fibrillation. *Circ. Res.* 1997;81:1045–1052.
 19. Neuberger H-R, Schotten U, Blaauw Y, et al. Chronic atrial dilation, electrical remodeling, and atrial fibrillation in the goat. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006;47:644–653.
 20. Medi C, Teh AW, Roberts-Thomson K, Morton JB, Kistler PM, Kalman JM. Right atrial remodeling is more advanced in patients with atrial flutter than with atrial fibrillation. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2012;23:1067–1072.

21. Cha T-J, Ehrlich JR, Zhang L, et al. Dissociation between ionic remodeling and ability to sustain atrial fibrillation during recovery from experimental congestive heart failure. *Circulation* 2004;109:412–418.
22. Shinagawa K, Shi Y-F, Tardif J-C, Leung T-K, Nattel S. Dynamic nature of atrial fibrillation substrate during development and reversal of heart failure in dogs. *Circulation* 2002;105:2672–2678.

Figures

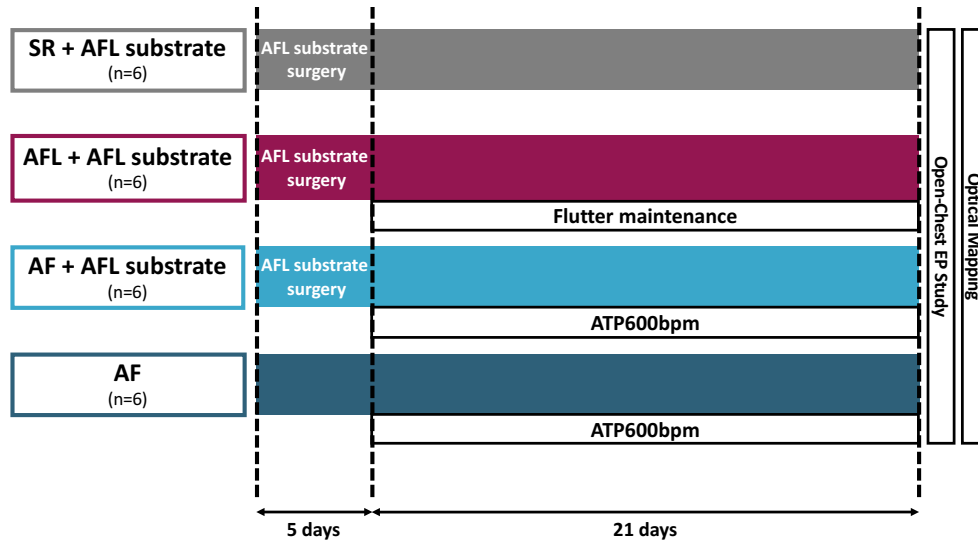
Figure 2 - 1. Overview of atrial flutter chronic dog model



A) Schematic of the Y-shaped lesion and anatomical substrate for AFL; B) Right lateral atrial photograph showing radiofrequency-induced Y-shape lesion; C) EKGs from AFL-dogs at different time-points during follow-up, D), E) Right atrial endocavity mapping at 3 weeks in an atrial-flutter dog. Dual-loop macroreentry maintained the arrhythmia, with counterclockwise lateral right atrial (D, longer dashes) and clockwise para-tricuspid (E, shorter dashes) circuits.

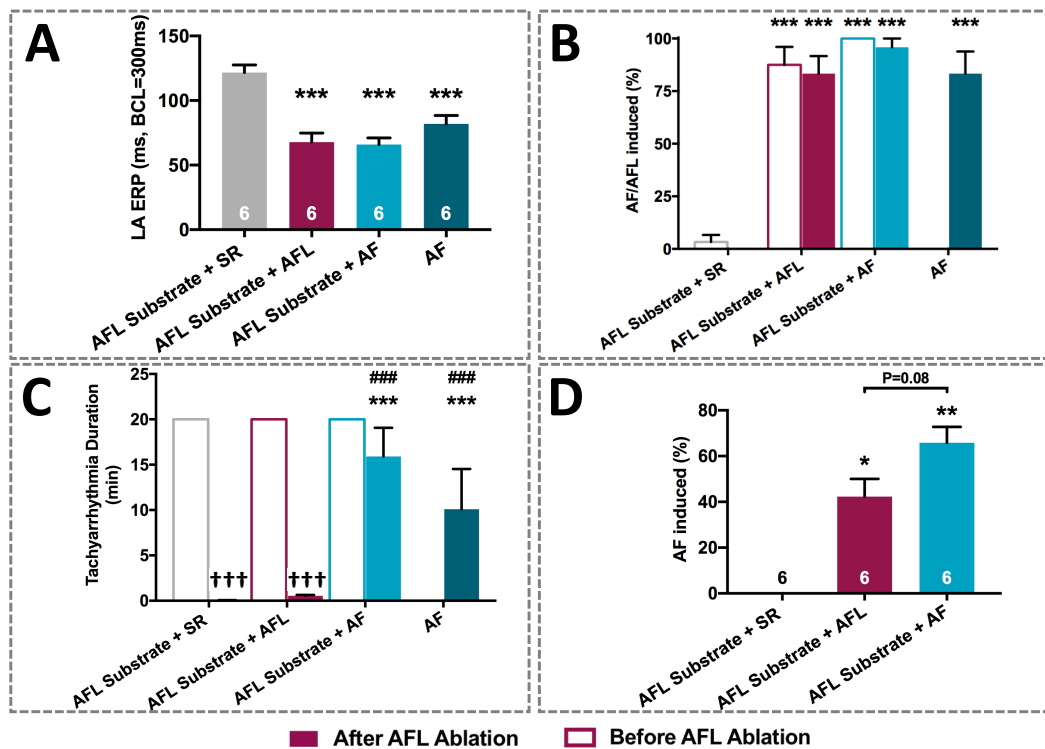
Symbols and Abbreviations: 1: Surgical Y-shaped lesion, 2: macroreentrant circuit across right atrium; SVC: superior vena cava; IVC: inferior vena cava; RAA: right atrial appendage.

Figure 2 - 2 Schematic of groups and interventions.



Abbreviations: SR indicates sinus rhythm; AFL, atrial flutter; AF, atrial fibrillation; ATP, atrial tachypacing.

Figure 2 - 3. Effects of 3-week AFL and AF on in vivo electrophysiological features

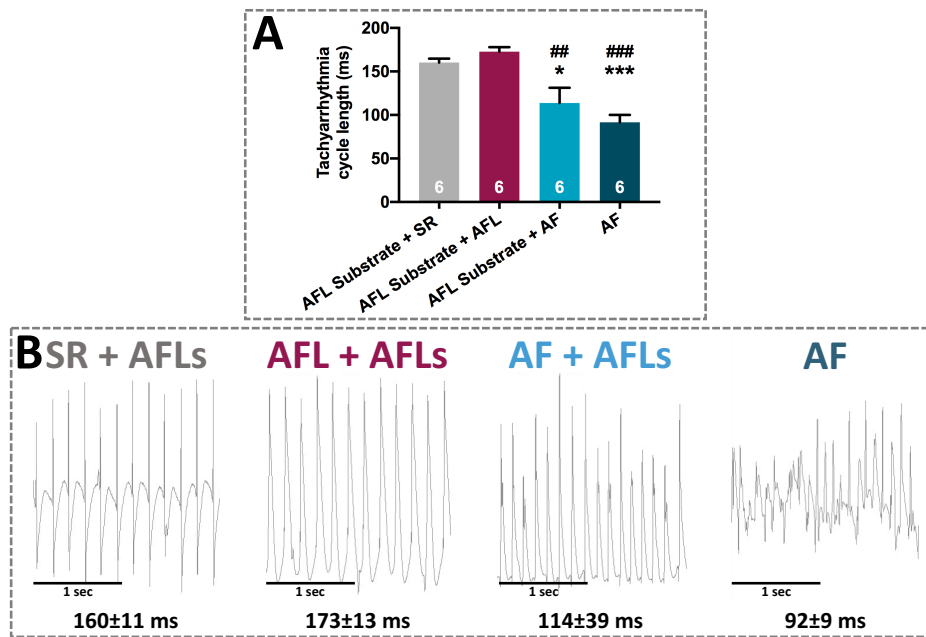


A) left-atrial ERP ; B) Inducibility of AF and/or AFL ; C) AF/AFL duration; D) Inducibility of AF

For selected analyses, results are shown before and after ablation of AFL-substrate. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ versus AFL-substrate + SR, by 1-way ANOVA with Tukey-test. ### $P < 0.001$ versus AFL-substrate+AFL, by 1-way ANOVA with Tukey-test. ††† $P < 0.001$ versus before AFL-ablation by 1-way ANOVA with Tukey-test.

Abbreviations: SR: sinus rhythm; AFL: atrial flutter; AF: atrial fibrillation, ERP: effective refractory period.

Figure 2 - 4. Tachyarrhythmia properties after 3-week AFL and/or AF

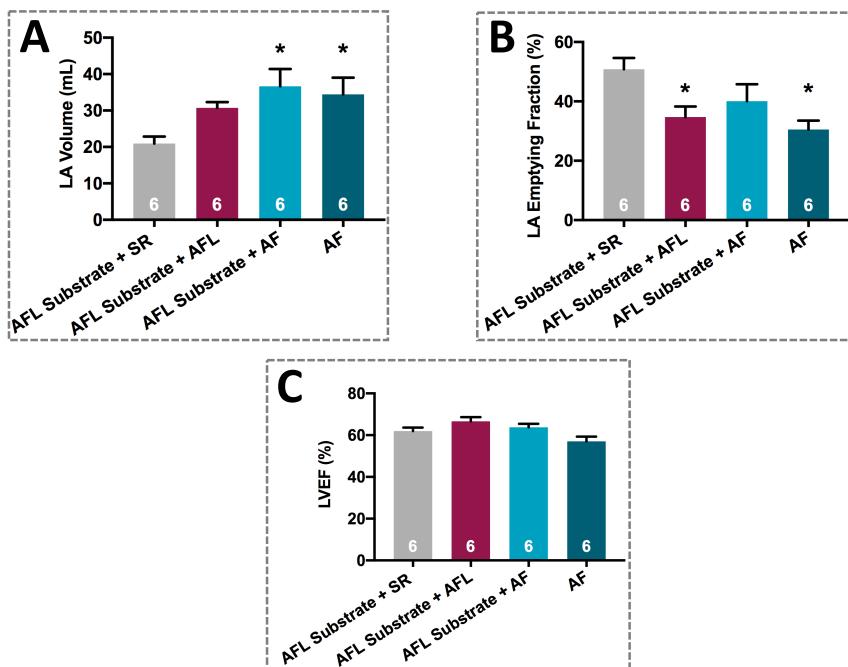


A) Mean±SEM tachycardia cycle-lengths; B) Examples of atrial electrograms during tachycardia.

*P<0.05 versus AFL-substrate+SR, by 1-way ANOVA with Tukey-test. ## P<0.01 versus AFL-substrate+SR, by 1-way ANOVA with Tukey-test.

Abbreviations: SR: sinus rhythm; AFL: atrial flutter; AF: atrial fibrillation.

Figure 2 - 5. Effects of 3-week AFL and AF on echocardiographic indices

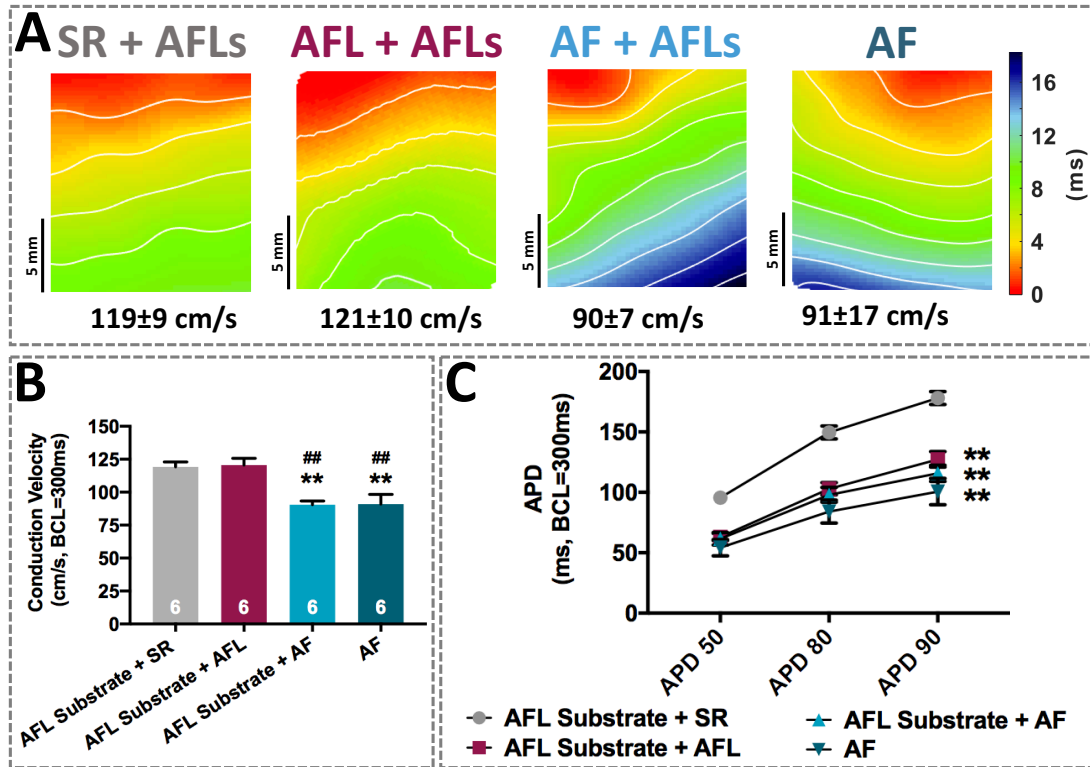


A) Left-atrial (LA) volume; B) LA Emptying Fraction; C) Left-ventricular ejection fraction (LVEF)

* <P0.05 versus AFL-substrate+SR by 1-way ANOVA with Tukey-test. # P<0.05 versus AFL-substrate+AFL by 1-way ANOVA with Tukey test.

Abbreviations: SR: sinus rhythm; AFL: atrial flutter; AF: atrial fibrillation.

Figure 2 - 6. Effects of 3-week AFL and/or AF on conduction and repolarization properties on optical mapping

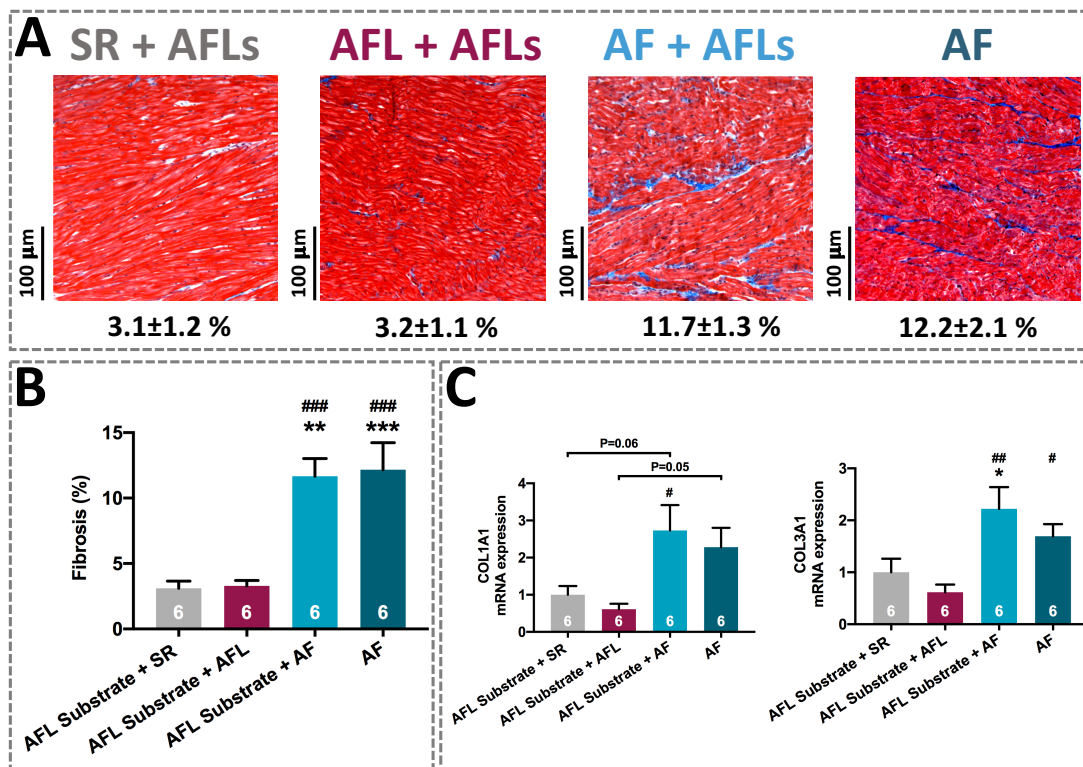


A) Representative left-atrial activation maps from each group; B) Mean±SEM Conduction Velocities; C) Mean±SEM action-potential duration (APD).

* P<0.05, ** P<0.01 versus AFL-substrate+SR by 1-way ANOVA with Tukey-test. # P<0.05, ## P<0.01 versus AFL-substrate+AFL by 1-way ANOVA with Tukey-test.

Abbreviations: SR: sinus rhythm; AFL: atrial flutter; AF: atrial fibrillation; AFLs: atrial flutter substrate; BCL: basal cycle length; APD: action potential duration.

Figure 2 - 7. Effects of 3-week AFL and/or AF on atrial fibrosis and the expression of collagen genes

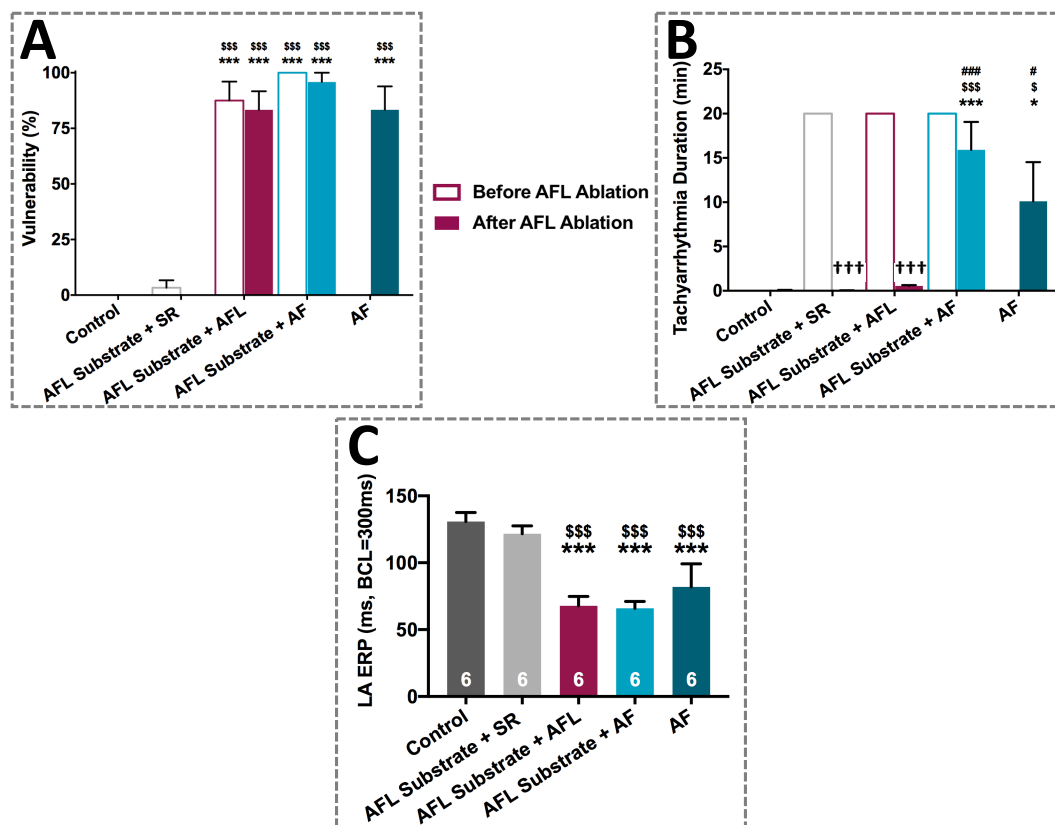


A) and B) : atrial fibrosis, C) : expression of collagen genes *Coll1A1* and *Coll3A1*.

* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001 versus AFL substrate+SR by 1-way ANOVA with Tukey test. # P<0.05, ## P<0.01, ### P<0.001 versus AFL substrate+AFL by 1-way ANOVA with Tukey-test.

Abbreviations: SR: sinus rhythm; AFL: atrial flutter; AF: atrial fibrillation.

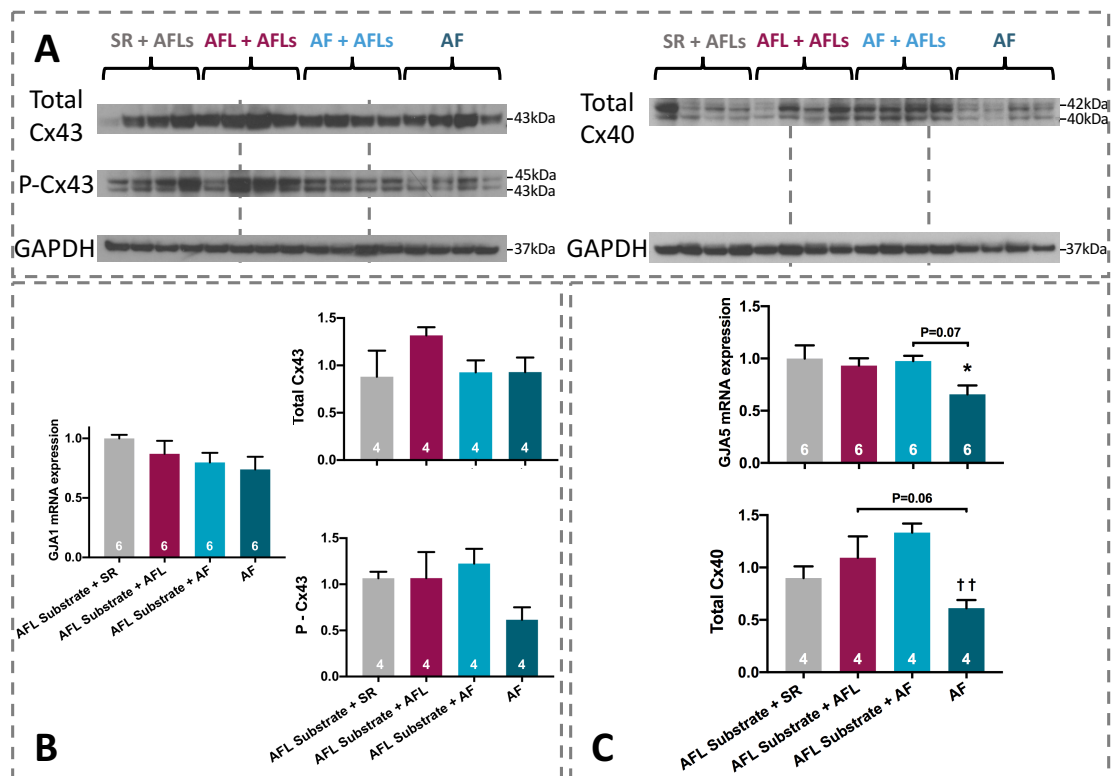
Online Figure 2 - 1. Distinctive effects of 3-week atrial flutter and AF on AF features, before and after ablation of atrial flutter substrate compared to control and sham groups



* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001 versus AFL-substrate + SR, by 1-way ANOVA with Tukey-test. # P<0.05, ## P<0.01, ### P<0.001 versus AFL-substrate+AFL, by 1-way ANOVA with Tukey-test. \$ P<0.05, \$\$ P<0.01, \$\$\$ P<0.001 versus Control by 1-way ANOVA with Tukey-test. †††P<0.001 versus before AFL-ablation by 1-way ANOVA with Tukey-test.

Abbreviations: SR: sinus rhythm; AFL: atrial flutter; AF: atrial fibrillation.

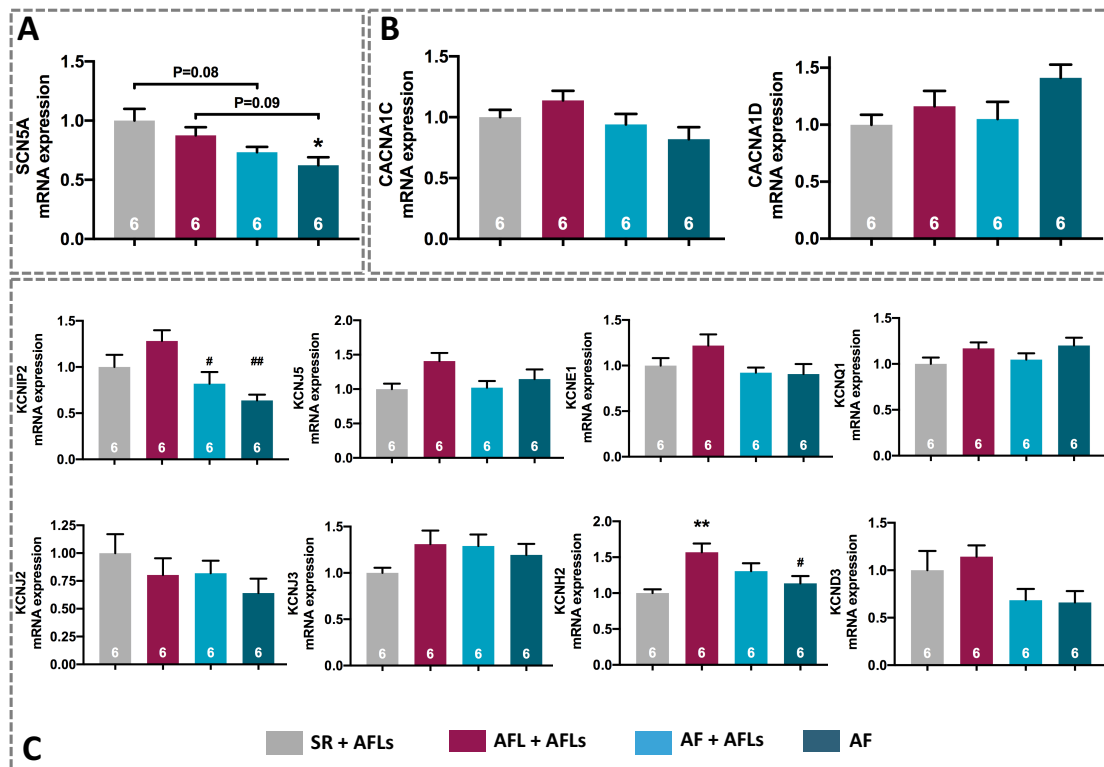
Online Figure 2 - 2. Distinctive effects of 3-week atrial flutter and AF on connexin expression



A) Examples of original Western blots. B) Mean data for GJA1 mRNA expression, total and phosphorylated connexin-43 (Cx43). C) Mean data for GJA5 mRNA expression and connexin-40 (Cx40).

* $P < 0.05$ versus AFL substrate+SR by 1-way ANOVA with Tukey test. †† $P < 0.01$ versus AF+AFL substrate by 1-way ANOVA with Tukey-test.

Online Figure 2 - 3. Distinctive effects of 3-week atrial flutter and AF on mRNA expression of various ion channel



A) Sodium channel subunit. B) Sodium channel subunit. C) Potassium channel subunit.
 * P<0.05, ** P<0.01 versus AFL substrate+SR by 1-way ANOVA with Tukey-test. # P<0.05, ## P<0.01 versus AFL substrate+AFL by 1-way ANOVA with Tukey-test.
 Abbreviations: SR: sinus rhythm; AFL: atrial flutter; AF: atrial fibrillation.

CHAPITRE 3 - Rôle différentiel de l'arythmie atriale et de la réponse ventriculaire sur le remodelage atrial en cas de la fibrillation atriale

Mise en contexte

Bien que la mise en place d'un remodelage atrial consécutif à la FA ait été mis en évidence ces dernières décennies, ainsi que l'effet de la cardiopathie rythmique sur le remodelage atrial, l'effet propre de l'arythmie atriale d'une part, et de la réponse ventriculaire en cas de FA d'autre part ne sont pas clairement identifiés. L'objectif de la présente étude était de caractériser l'effet différentiel de l'arythmie atriale et de la réponse ventriculaire rapide en cas de FA, sur le remodelage atrial, comparativement au remodelage secondaire à une cardiopathie rythmique, en s'appuyant sur un modèle chronique canin avec un suivi de trois semaines.

Guichard, J.-B., Qi, X., Xiong, F., L'Heureux, N., Hiram, R., Naud, P., Tardif, J.-C.,

Da Costa, A., Nattel, S. (2019)

***Role of Atrial Arrhythmia and Ventricular Response
in Atrial Fibrillation Induced Atrial Remodeling***

(In preparation)

Contribution des auteurs

J.-B. G. a formulé l'hypothèse, conceptualisé l'étude et analysé les données. J.-B. G., N.L'H. ont mis en place les différents modèles chroniques *in vivo*. J.-B. G., X.Q. et P.N. ont conceptualisé les expériences *in vitro* mises en place au cours de l'étude. J.-B. G., F.X. et R.H. ont effectué les expériences primaires. S.N. a participé à la formulation de l'hypothèse, supervisé les travaux et discuté les résultats. S.N. et A.D.C. ont édité le document. Tous les auteurs approuvent la version finale du manuscrit ainsi que tous les aspects du travail.

Role of Atrial Arrhythmia and Ventricular Response in Atrial Fibrillation Induced Atrial Remodeling

Jean-Baptiste Guichard, MD^{1,2}, Xiao-Yan Qi, PhD¹, Feng Xiong, PhD¹, Nathalie L'Heureux¹, Roddy Hiram, PhD¹, Patrice Naud, PhD¹, Jean-Claude Tardif, MD¹,
Antoine Da Costa, MD, PhD², Stanley Nattel, MD^{1,3,4,5}

¹Department of Medicine and Research Center Montreal Heart Institute and Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada; ²Department of Cardiology, University Hospital of Saint-Étienne, University Jean Monnet, Saint-Étienne, France; ³Department of Pharmacology and Therapeutics, McGill University Montreal, Canada; ⁴Institute of Pharmacology, West German Heart and Vascular Center, Faculty of Medicine, University Duisburg-Essen, Essen, Germany; ⁵IHU LIRYC and Fondation Bordeaux Université, Bordeaux, France.

Short title: Rapid Ventricular Rate-Induced Atrial Remodeling

Word count : 5805 words

Corresponding author: Stanley Nattel, MD, Department of Medicine and Research Center Montreal Heart Institute and Université de Montréal, 5000 Belanger St E, Montreal H1T 1C8, Quebec, Canada. E-mail : stanley.nattel@icm-mhi.org; Phone : 514-376-3330 ext 3587 ; Fax: 514-593-2493; Twitter handle: @StanleyNattel

Abstract

Background: Atrial fibrillation (AF) causes atrial remodeling, but no experimental studies have addressed the specific roles of the atrial versus the associated ventricular arrhythmia.

Objectives: To analyze the specific roles of atrial tachycardia vs. high ventricular rate in AF-associated atrial remodeling.

Methods : Four groups (12 dogs/group) were subjected to 3 weeks of pacing: 600-bpm atrial tachypacing (A-TP) maintaining AF (AF w/o AVB); A-TP with atrioventricular-node ablation (AF+AVB) and ventricular-demand pacing (80-bpm); 160-bpm ventricular tachypacing (V160) reproducing the ventricular response-rate during AF; and sinus rhythm with AVB and ventricular-pacing at 80-bpm (CTL).

Results: At terminal study, left-atrial (LA) effective refractory period (ERP) was reduced equally in AF w/o AVB and AF+AVB versus V160 and CTL. AF-inducibility by single extrastimuli was increased strongly in AF w/o AVB and AF+AVB and modestly in V160. AF-duration (burst-pacing induced) was significantly increased in AF w/o AVB but not in AF+AVB and V160 groups. Left-ventricular ejection fraction (LVEF) was moderately reduced in AF w/o AVB and V160 groups versus CTL and AF+AVB. Conduction-velocity was decreased in AF w/o AVB, to a greater extent than in AF+AVB and V160. Atrial fibrous-tissue content (Masson- Trichrome) was increased in AF w/o AVB, AF+AVB and V160, with collagen-gene upregulation only in AF w/o AVB. Connexin43 gene-expression was reduced only in AF w/o AVB. An additional group of 240-bpm ventricular tachypacing dogs (VTP240; to induce congestive heart failure) was studied. Versus other tachypaced groups, VTP240 caused greater fibrosis but no change in LA-ERP or AF-inducibility. VTP240 also increased

AF-duration, strongly decreased LVEF, and was the only group with LA natriuretic-peptide activation.

Conclusions: The atrial tachyarrhythmia and rapid ventricular response during AF produce distinct atrial remodeling; both contribute to the arrhythmogenic substrate. These results provide new insights into the determinants of AF-related remodeling and provide novel considerations for ventricular rate-control.

Key words: atrial fibrillation, atrial remodeling, fibrosis, arrhythmia-induced cardiomyopathy, ventricular response

Introduction

Atrial fibrillation (AF) is a major source of population morbidity and mortality (1). Present treatment options are limited; advances in our understanding of basic underlying mechanisms are needed for the identification of new therapeutic targets and approaches (2). Atrial remodeling plays a central role in AF pathophysiology (3). It has long been known that the atrial tachycardia associated with AF promotes AF-vulnerability, primarily via electrical remodeling characterized by atrial action-potential duration (APD) and effective refractory period (ERP) abbreviation (4) due to ion-channel dysregulation (5, 6). Whereas APD/ERP-changes occur rapidly after the onset of AF, there is a slower phase of continuing AF-promotion that must be due to additional changes (4). Rapid atrial-cardiomyocyte activity acts on fibroblasts to promote their differentiation into collagen-secreting myofibroblasts (7), and the development of atrial fibrosis coincides with the transition from short-lasting to spontaneously-persistent AF-episodes (8). In addition to a rapid atrial rate, AF may be characterized by a rapid ventricular response. At initial presentation, many AF-patients have an uncontrolled ventricular response that, in extreme cases, leads them to present with congestive heart failure (HF) due to ventricular tachycardiomyopathy (9). Clinically, the target heart-rate for rate-control remains an open question. The RACE Trial suggested that lenient rate-control was associated with similar symptom-control and clinical outcomes to strict control (10); however, the relationship between rate-control and atrial remodeling has not been systematically assessed.

The objective of this study was to evaluate the relative role of atrial tachyarrhythmia and the associated ventricular response in determining the atrial remodeling occurring in dogs during 3 weeks of electrically-maintained AF. The

principal groups studied were: 1) a Control-group with radiofrequency energy-induced atrioventricular block (AVB) and ventricular-demand (VVI) pacing at 80 bpm for 3 weeks; 2) an AF-group, with AF maintained for 3 weeks by 600 bpm right-atrial (RA) pacing and no AVB (AF w/o AVB); 3) an AF-group (600-bpm RA-pacing), with AVB and VVI-pacing at 80 bpm for 3 weeks (AF+AVB); and 4) a group with right-ventricular tachypacing (VTP) for 3 weeks at a rate equivalent to the ventricular response-rate of AF w/o AVB dogs (160 bpm). In addition, we studied 2 additional control groups, acute control-dogs and dogs instrumented and observed for 3 weeks like AF-animals but without pacemaker activation. We also studied a group of dogs with 3 weeks of VTP at 240 bpm, in order to compare the atrial remodeling in the 4 primary groups studied with a set of animals showing clear tachycardia-induced HF as previously described (11).

Methods

Animal model

Animal handling procedures were approved by the local Animal Research Ethics Committee and complied with National Institutes of Health Guidelines for the care and use of laboratory animals. Dogs were initially anesthetized with ketamine (5.3 mg/kg, intravenous), diazepam (0.25 mg/kg, intravenous), and isoflurane (1.5%), intubated, and ventilated. A pacing lead was inserted into the right atrial appendage (RAA) via a jugular vein under fluoroscopic guidance and attached to a subcutaneous pacemaker implanted in the neck. A pacing lead was inserted into the right ventricle (RV) via a jugular vein under fluoroscopic guidance and attached to a subcutaneous pacemaker implanted in the neck for CHF-, V160-, AF+AVB- and Sham-groups.

Atrioventricular block (AVB) was achieved by atrioventricular node ablation for Sham- and AF+AVB-groups. A quadripolar catheter was inserted *via* the right femoral vein and positioned across the tricuspid valve under fluoroscopic guidance. After identifying the His potential, we applied radiofrequency (RF) energy to create AVB.

After 72 hours for postoperative recovery, AF was initiated and maintained continuously by atrial tachypacing (AT-P) at 600 bpm for 21 days in AF-groups. All dogs with AVB had ventricular-demand pacing via a separate pacemaker attached to a tined bipolar lead implanted transvenously in the right-ventricular apex at 80 bpm. Two groups of dogs were maintained in a rapid ventricular rhythm by ventricular tachypacing (VT-P) at 160 bpm (“V160-group”) or at 240 bpm (“CHF-group”).

Experimental groups

Fifty-eight mongrel dogs (mean weight: 28.3±4.9 kg) were studied in the following groups (**Figure 3 - 1**). (1) Control-group (n=12), with AVB and 80 bpm-ventricular paced rhythm but no tachypacing (during a 3-week follow-up); (2) AF+AVB-group (n=12), with AF maintained by 600 bpm atrial-tachypacing (A-TP), AVB, and 80 bpm-ventricular paced rate during 3-week follow-up; (3) AF without (w/o) AVB-group (n=12), with AF maintained by 600 bpm A-TP during 3-week follow-up; (4) V160-group (n=12), with 160 bpm ventricular-tachypacing (V-TP) during 3-week follow-up; and (5) CHF-group (n=10) with 240 V-TP during 3 week follow-up.

In pilot studies, we estimated the ventricular response rate to AF w/o AVB as 160 bpm and therefore selected a VTP-rate of 160 bpm to mimic the ventricular response to AF in the absence of rate control. Baseline-, 24 hour-, 1 week-, 2 week- and 3 week 24-hour Holter ECGs were obtained on each dog of the AF w/o AVB-group to assess the physiological ventricular response during AF (**Online Figure 3 - 1**). There was no statistically-significant change in the ventricular response over time, and it averaged 164 bpm at the end of the 3-week follow-up.

The primary analyses for the study were based on the AF w/o AVB (atrial tachyarrhythmia plus rapid ventricular response), AF+AVB dogs (atrial tachyarrhythmia without rapid ventricular response), 160-VTP (ventricular rate similar to AF w/o AVB dogs, no atrial tachyarrhythmia) and Control groups. The 240-bpm CHF group was chosen to compare to the VTP-160 group, since we noted some degree of left-ventricular (LV) dysfunction in the VTP-160 dogs and we wanted to contrast the atrial remodeling and physiology resulting from uncontrolled rate during AF with that in a standard model of tachycardiomyopathic CHF (11).

Tachypacing was initiated after a 5-day postoperative rest period. Endpoint data (in vivo electrophysiological study (EPS) and ex vivo optical mapping) were assessed after a subsequent 3-week follow-up period.

Open-chest EPS

Dogs were anesthetized with ketamine (5.3 mg/kg, intravenously), diazepam (0.25 mg/kg, intravenously), and isoflurane (1.5%), intubated, and mechanically ventilated. Body temperature was maintained at 37°C. The pacemaker was deactivated and a median sternotomy performed. In dogs with sustained AF despite pacemaker-cessation on the open-chest study day, AF was direct-current (DC) cardioverted for the EPS.

Bipolar electrodes were hooked into the left-atrial (LA) appendage (LAA) for recording and stimulation. LA effective refractory period (ERP) was measured at a basic cycle length (BCL) of 300 ms with 8 basic (S1) stimuli, followed by an S2 with 5-ms decrements (all pulses twice-threshold, 2-ms). The vulnerability to AF-induction at each of 6 sites (LA appendage, LA inferior and superior wall, RAA, RA inferior and superior wall) was defined by the ability of single S2s to induce, in a reproducible fashion, AF that lasted >1 second. Overall vulnerability in each dog was defined as the percentage of the 6 pacing-sites at which AF was inducible. To measure AF-duration as an index of the AF-maintaining substrate, AF was induced with 2-s burst-pacing (10-Hz, 4×threshold-current). Mean AF-duration in each dog was based on 10 AF inductions. Prolonged AF (>20 min) was terminated by DC-cardioversion. A 20-min rest period was allowed after DC-cardioversion before continuing measurements. If prolonged AF was induced twice, no further AF-induction was performed. After

haemodynamic assessment, while under continued anesthesia, dogs were euthanized by exsanguination via the aorta to remove the heart for ex-vivo study.

Echocardiography

Transthoracic echocardiography was performed at baseline and on the last day prior to euthanasia, with an M3S probe (2.0-4.3 Megahertz) and a Vivid 7 Dimension system (GE Healthcare Ultrasound, Horten, Norway) under sedation with acepromazine (0.07 mg/kg i.m.). LV and LA were imaged on apical 4 and 2 chamber views. The biplane Simpson method was used to determine LV volumes, LV ejection fraction (LVEF), LA volumes and LA emptying fraction. The average of three to six cardiac cycles was used for each measurement, with the operator blinded to group assignment.

Optical mapping

The LA was dissected free and perfused through its coronary artery with Krebs solution (mM: 120 NaCl, 4 KCl, 1.2 MgSO₄ 0.7, 1.2 KH₂PO₄, 25 NaHCO₃, 5.5 glucose, 1.25 CaCl₂, 95% O₂/5% CO₂) at 30 mL/min and 37°C. Any leak from arterial branches was ligated with silk thread to maintain adequate perfusion. After 30 minutes for stabilization and electrical/mechanical decoupling with blebbistatin (15 μM), the heart was loaded with di-4-ANEPPS (Biotium, Inc., Hayward, CA). A charge-coupled device (CardioCCD, RedShirt Imaging, LLC, Decatur, GA) was used to record LA free wall fluorescence from on a 15x15-mm region at 2 kHz. Bipolar electrodes were used to pace the left atrial appendage with 1.5×threshold current, 2-ms stimuli at a BCL of 300 ms. Optical maps were obtained to measure conduction velocity (CV) and action potential duration (APD) with custom-written software algorithms (12). We used the

average APD to 80%-repolarization (APD80) at all pixels as the primary repolarization index for this study.

Real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction

LA-samples were homogenized in lysis buffer and RNA was isolated with Nucleospin RNA-II (Macherey Nagel, Düren, Germany), including DNase treatment to prevent genomic contamination. RNAs were reverse-transcribed with the High-Capacity Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA). Quantitative polymerase chain-reaction (PCR) was performed with TaqMan probes and primers from Applied Biosystems for *KCNJ2*, *KCND3*, collagen-1 (*COL1A1*), collagen-3 (*COL3A1*), as well as for the housekeeping genes HPRT and β 2-microglobulin. SyBr green primers were used to quantify *SCN5A*, L-type Ca^{2+} -channel α -subunits (*CACNA1C* and *CACNA1D*), Kv7.1-subunits (*KCNQ1* and *KCNE1*), *KCNIP2*, *KCNH2*, *KCNJ3*, *KCNJ5*, connexin-43 (*GJA1*), connexin-40 (*GJA5*) and atrial and brain-type natriuretic peptides (*NPPA* and *NPPB*), along with HPRT and β 2-microglobulin. The geometric mean of HPRT and β 2-microglobulin expression was used for normalization. Quantitative PCR reactions were performed with Taqman Gene Expression Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA) on a Stratagene MX3000 (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA). Gene-expression values were calculated by the $2^{-\Delta\text{Ct}}$ method and normalized to Control-group values.

Western blot

Protein samples were separated by electrophoresis on 4-20% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels and transferred electrophoretically onto polyvinylidene difluoride membranes. Membranes were blocked in Tris-buffered saline (TBS)

containing 0.2% (volume/volume) Tween-20 and 5% (weight/volume) BSA and incubated overnight at 4°C with primary antibodies diluted in TBS containing 0.2% Tween-20 and 1% BSA. After washing with TBS/1% BSA, membranes were hybridized with horseradish peroxidase-conjugated secondary antibody. Immunoreactive bands were detected by electrochemiluminescence with BioMax MS/MR films and quantified with Quantity One software (Bio-Rad, Hercules, CA). All expression data are relative to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) staining for the same samples on the same gels. Antibodies used were: GJA1 (AB1727, Merck Millipore, Burlington, MA), P-Cx43(Ser368) (48-3000, ThermoFischer Scientific, Waltham, MA), GJA5 (36-4900, Thermofischer Scientific, Waltham, MA).

Histology

Sections (6 µm) were cut at room temperature and stained with Masson's Trichrome. Stained images were digitized and the fibrotic area was analyzed with Image Pro 9.3 (Media Cybernetics, Rockville, MD). LA-fibrosis was quantified by an observer blinded to group and expressed as percentage of cross-sectional area.

Data analysis

Continuous variables are expressed as mean±SEM. Multiple group comparisons were obtained with 1-way ANOVA and Tukey tests. Two-tailed P<0.05 indicated statistical significance. The authors had full access to and take responsibility for the integrity of the data. All authors have read and agree to the manuscript as written.

Results

Electrophysiologic changes

AF+AVB, AF w/o AVB and V160 dogs subjected to 21-day tachyarrhythmia showed significantly increased atrial vulnerability relative to Control-dogs (**Figure 3 - 2. A**). Furthermore, AF-vulnerability among AF w/o AVB-dogs was significantly greater compared to AF+AVB- and V160-dogs. LA ERP-abbreviation was observed in AF+AVB- and AF w/o AVB- but not V160 groups (**Figure 3 - 2. B**). After a 3-week follow-up, the duration of burst pacing-induced arrhythmia was significantly greater in AF w/o AVB compared to the other groups (**Figure 3 - 2. C**).

Hemodynamic changes

AF+AVB-dogs showed an increased LA volume (**Figure 3 - 3. A**). AF, with or without AVB, was associated with a 25% reduction in LA emptying fraction compared to Control- and V160-groups (**Figure 3 - 3. B**). A rapid ventricular rate, whether in AF w/o AVB- or V160-groups, reduced LVEF significantly, by about one-third (**Figure 3 - 3. C**).

Ex vivo electrophysiology

There was a statistically-significant reduction, by 30-40%, in conduction velocity for all tachypaced groups versus Control (**Figure 3 - 4. A and B**). Conduction-velocity reduction was quantitatively greater in AF w/o AVB-dogs compared to the other tachypaced groups, but the difference failed to reach statistical significance. Both AF+AVB- and AF w/o AVB-dogs showed a significant decrease in APD80 compared to Control- and V160-dogs (**Figure 3 - 4. C**), consistent with in vivo ERP data.

Basic determinants of conduction velocity

To analyze the mechanistic basis of conduction-velocity changes, we assessed a variety of basic determinants. Examples of Masson-trichrome stained atrial-tissue sections are shown in **Figure 3 - 5. A**. Fibrous-tissue content appears to be increased in the AF+AVB-, AF w/o AVB- and V160-samples. **Figure 3 - 5. B** confirms this impression, with a significant, 3-fold increase in atrial fibrous-tissue content in AF+AVB- and V160- and 4.5-fold increase in AF without AVB- compared to Control-dogs. Collagen-gene expression was enhanced in AF w/o AVB-dogs for both subtypes 1 and 3 but not in AF+AVB- and V160-dogs compared to Control (**Figure 3 - 5. C**).

Connexin-43 (*GJA1*) mRNA was significantly downregulated only in the AF w/o AVB-group, and not in other tachypaced groups, compared to Control (**Figure 3 - 6. A**). Connexin-43 Western blots are shown in **Figure 3 - 6. B**. Consistent with the mRNA data, the largest changes in protein were seen in the AF w/o AVB group, averaging an about $79\pm 10\%$ reduction (**Figure 3 - 6. C**). Phosphorylated connexin-43 values showed greater within-group variability, with the only statistically-significant difference being a decrease in AF+AVB-dogs versus Control. Connexin-40 *GJA5* mRNA expression was reduced only in AF+AVB dogs (**Online Figure 3 - 2. A**), and connexin-40 Western blots showed no significant changes (**Online Figure 3 - 2. B**).

We then analyzed the expression of ion-channel subunits related to the electrophysiological changes we observed. *SCN5A* mRNA-expression was significantly reduced in all tachypaced groups (**Online Figure 3 - 3. A**). No significant differences were found in L-type Ca^{2+} -channel subunits (**Online Figure 3 - 3. B**). The results for K^{+} -channel subunits were variable and the only potentially meaningful

alterations were weakly-significant reductions in *KCND3* expression for the AF groups (**Online Figure 3 - 3. C**).

Comparison to changes associated with congestive heart failure

No differences among groups were found for mean LA pressure (**Figure 3 - 7. A**) or *NPPA*-expression (**Figure 3 - 7. B**). There was a statistically-significant 2.5-fold increase in *NPPB* mRNA expression in CHF-, but not in the other tachypaced groups, compared to Control (**Figure 3 - 7. B**). Mean atrial fibrosis-extent was 2-fold greater in CHF- versus V160- and AF+AVB-groups, and 6-fold greater than Control (**Figure 3 - 7. C**). LVEF was statistically-significantly reduced in CHF- compared to all other groups (**Figure 3 - 7.D**). LV systolic pressure was slightly but not significantly lower in the CHF-group compared to the others (**Figure 3 - 7. E**), LV filling pressure was significantly higher versus the other groups (**Figure 3 - 7. E**).

CHF did not significantly alter LA ERP or atrial vulnerability versus Control (**Online Figure 3 - 4. A and B**); however, it increased AF duration to an extent similar to AF w/o AVB (**Online Figure 3 - 4. C**). LA volume was strongly increased by CHF (**Online Figure 3 - 5**), while *SCN5A* expression was reduced to an extent similar to the other tachypacing groups. Consistent with the greater degree of LA fibrosis in CHF, *COL1A1* and *COL3A1* expression were more strongly increased with CHF than in any other group. Connexin43 and connexin40 expression was similar in CHF compared to the other groups.

Comparison between Control and other non-tachypaced groups

We elected to choose a group of dogs with AVB and ventricular demand pacing as a control group, to account for any potential effects of atrioventricular dyssynchrony,

in view of the fact that in none of the tachypaced groups was the atrial rate directly linked to the ventricular. To determine whether this choice of control group might have affected the comparisons, we performed additional experiments with acute control dogs (n=12) and dogs instrumented like the AF-dogs, but with neither AVB nor ventricular pacing (**Online Figure 3 - 6**). There were no significant differences among any of these groups in terms of AF vulnerability (**Online Figure 3 - 7. A**), LA ERP (**Online Figure 3 - 7. B**), AF-duration (**Online Figure 3 - 7. C**), LA Emptying Fraction (**Online Figure 3 - 7. D**), LA volume (**Online Figure 3 - 7. E**) or LVEF (**Online Figure 3 - 7. F**).

Discussion

Main findings

Atrial remodeling is known to be a major contributor to the progressive nature of AF. Here, we have conducted extensive experimentation to carefully analyze the contributions of the atrial arrhythmia and the associated rapid ventricular response to AF-induced remodeling. We found that both the atrial tachyarrhythmia caused by AF and the associated rapid ventricular response contribute to AF-induced remodeling, with somewhat different profiles. Rapid atrial activation in the absence of ventricular tachyarrhythmia predominantly abbreviates atrial APD and refractoriness, while increasing atrial vulnerability. In addition, the atrial arrhythmia causes

LA structural remodeling, including dilation, reduced emptying function and fibrosis, in the absence of any LV function changes. Ventricular tachycardia at a rate comparable to that of the ventricular response to the fibrillating atrium also produces structural remodeling, primarily in terms of atrial fibrosis, does not affect atrial refractoriness, but does increase vulnerability and causes moderate LV dysfunction without increase LV end-diastolic pressure or natriuretic peptide activation.

The combination of rapid irregular atrial activation by AF and an uncontrolled ventricular response produces stronger atrial remodeling than either change alone, including reduced ERP and enhanced vulnerability, significant activation of collagen genes and downregulation of connexin43-expression and prolongation of AF-duration to a value significantly greater than associated with either atrial tachyarrhythmia or ventricular tachycardia alone.

Figure 3 - 8 is a schematic illustrating the contributions of atrial arrhythmia and rapid ventricular response to the atrial remodeling caused by AF. An understanding of

these properties is important for a better appreciation of the atrial remodeling associated with various clinical forms of AF.

Comparison with prior studies of the atrial remodeling effects of atrial rate and ventricular response

Wijffels et al first demonstrated that AF leads to atrial remodeling in a goat model, with prominent atrial ERP abbreviation stabilizing within 48 hours and AF stability continuing to increase over the subsequent days to weeks (4). The same group subsequently showed that rapid atrial rate is the main driver to atrial remodeling, to the exclusion of effects of beta-adrenergic tone, atrial ischemia, stretch or atrial natriuretic peptide (12). Fibrosis was first demonstrated to be an important mechanism for AF-promoting remodeling in dogs subjected to ventricular tachypacing at 220-240 bpm for 5 weeks (11). Clinical AF is associated with fibrosis that tends to be progressive, along with increasing difficulty in restoring and maintaining AF (13). Sustained AF with an uncontrolled ventricular response is well-recognized to produce tachycardiomyopathic CHF (9), with associated atrial fibrosis attributed to CHF (14). However, it was then shown that rapid activation of atrial cardiomyocytes releases diffusible products that activate fibroblasts (7), raising the possibility that the rapid atrial rate in AF may itself lead to atrial fibrosis even in the absence of any overt ventricular dysfunction. This idea was supported by subsequent evidence that even in the presence of a controlled ventricular response, AF does eventually lead to atrial fibrosis (15).

The present study expands our understanding of the atrial remodeling associated with AF by providing insights into the contributions of the contributions of the two principal remodeling-inducing components: the rapid, irregular atrial rate and the rapid ventricular response. We find that either one alone produces significant AF-promoting

remodeling, with some distinct and some overlapping properties, as shown in **Figure 3 - 8**. Furthermore, AF with an uncontrolled ventricular response produces significantly more profibrillatory remodeling than either component alone, combining both the distinct features of atrial-tachycardia and ventricular-response induced remodeling where they differ, while producing quantitatively greater changes where they overlap.

We were also able to provide an additional perspective on our findings by comparing the results of AF-related remodeling to those in dogs with clear CHF. Our findings show that while the rapid ventricular rate associated with AF causes atrial remodeling in V160 dogs, the results are distinct from those in tachycardiomyopathic CHF. CHF-dogs showed very strong collagen-gene activation, much greater atrial fibrosis than in the AF-related groups, and as previously recognized(10) and in contradistinction to the V160 dogs, does not increase vulnerability to AF-induction by premature beats.

Clinical implications

Rate control is the single most widely-used aspect of drug therapy for AF, and there are many unresolved issues about how to optimize it (16), leading to somewhat disparate guidelines among the major society consensus documents (17). The Rate Control Efficacy in Permanent Atrial Fibrillation: a Comparison between Lenient versus Strict Rate Control II (RACE II) study, a foundational document in this area, showed that strict rate control (target heart-rate under 80 bpm) was not superior to lenient rate-control (target heart-rate under 110 bpm) in controlling the composite endpoint of cardiovascular death, CHF hospitalization, stroke/systemic embolism, major bleeding events and major arrhythmic events (10). In addition, the occurrence of AF-related symptoms was similar in both groups.

The results of the RACE-II study are widely understood to indicate that as long as the ventricular response rate is kept at levels associated with a risk of tachycardiomyopathy, there is no systematic advantage to stricter rate-control. The results presented here show that an uncontrolled rate leads to atrial fibrosis and enhanced AF-vulnerability, and that optimal rate-control might be important for the ultimate success of AF-ablation strategies in patients with persistent AF awaiting ablation.

It is difficult to directly relate heart-rates in an animal model to man. The mean ventricular response-rate in our AF w/o AVB dogs was about 160 bpm, certainly a rate that if sustained for weeks in man would likely lead to CHF. However, our AF w/o AVB dogs did not have signs of CHF- despite a statistically-significant reduction in LVEF to the order of 40%, they did not show increases in LVEDP, BNP-changes or any clinical signs of CHF. Heart-rates of the order of 220-240 bpm are needed to induce overt signs of CHF in dogs. Our study suggests the need to carefully revisit the potential atrial remodeling effects of ventricular rate in AF. Such knowledge would be important in optimizing the success of subsequent rhythm-control approaches in AF patients.

Novel findings

This is the first study to analyze in detail the effects on atrial electrophysiology and structure, along with AF vulnerability and sustainability, of the atrial versus ventricular tachyarrhythmias associated with AF, individually and in combination. We uncovered distinct patterns of remodeling for each. In addition, this is to our knowledge the first time that the atrial remodeling effects have been studied for isolated ventricular tachypacing at a rate equivalent to that of the ventricular response to AF in the absence of rate control.

It is also to our knowledge the first demonstration that the effects of atrial remodeling to promote AF maintenance depend on both the atrial arrhythmia and the ventricular response rate. While mean AF-duration was greater in both AF+AVB and V160 groups than Control, neither difference was statistically significant, while AF w/o AVB increased AF duration significantly with respect to Control, as well as AF+AVB and V160 groups (**Figure 3 - 2. C**). This observation suggests that the atrial arrhythmia associated with AF and the rapid ventricular response have synergistic effects on the AF-maintaining substrate.

Potential limitations

Like all experimental models, ours has some limitations that we wish to recognize. First, while the ventricular rate of the V160 group was matched to that of the AF w/o AVB dogs, it did not reproduce the ventricular rhythm irregularities occurring in AF. Rhythm irregularity during AF can have effects independent of ventricular rate (18), so this limitation needs to be considered in interpreting our results. Second, we used right-ventricular pacing in V160 dogs to study the effects of a ventricular rate comparable to that in AF w/o AVB dogs. Ventricular dyssynchrony is a known potential contributor to clinical CHF and right-ventricular tachypacing is known to decrease mechanical efficiency in tachycardiomyopathic dogs more than left-ventricular or biventricular pacing (19). Despite these limitations in our ventricular-rate paradigm, LVEF changes in V160 dogs were similar to those in AF w/o AVB dogs (**Figure 3 - 3. C**), and neither showed significant natriuretic-protein activation (**Figure 3 - 7. B**).

Finally, because of the different types of groups that we studied, it is not clear what the optimum control-group should be. We decided to use dogs with AVB and

ventricular pacing at 80 bpm, to control for the absence of synchrony between atrial and ventricular firing that was present in all of our experimental groups. We felt that this was essential in light of previous studies documenting atrial dilation and remodeling in goats with chronic AVB (20). To assess possible changes induced by AVB and ventricular pacing in our Control dogs, we studied additional groups of sham-instrumented dogs and acute controls and found no significant differences from the Control group we used here (**Online Figure 3 - 7**).

Conclusions

AF induces atrial remodeling via accelerations in both the atrial rate and the ventricular response. Each component produces distinct remodeling, and in AF with a poorly controlled ventricular response the atrial remodeling aspects of both profiles, with synergistic effects on AF sustainability. These findings emphasize the importance of considering the remodeling effects associated with the ventricular response and the need for more clinical research to assess the relevance of our findings to man and to help optimize rate-control targets in AF.

Acknowledgements

The authors thank Lucie Lefebvre and Jennifer Bacchi for secretarial help with the manuscript, and Nathalie L'Heureux and Chantal St-Cyr for technical assistance.

Funding sources

The Canadian Institutes of Health Research (Foundation Grant 148401) and the Heart and Stroke Foundation of Canada (G-16-00012708).

Conflict of Interest

Dr. Guichard received fellowship support from Abbott. The other authors have no potential conflicts to disclose.

References

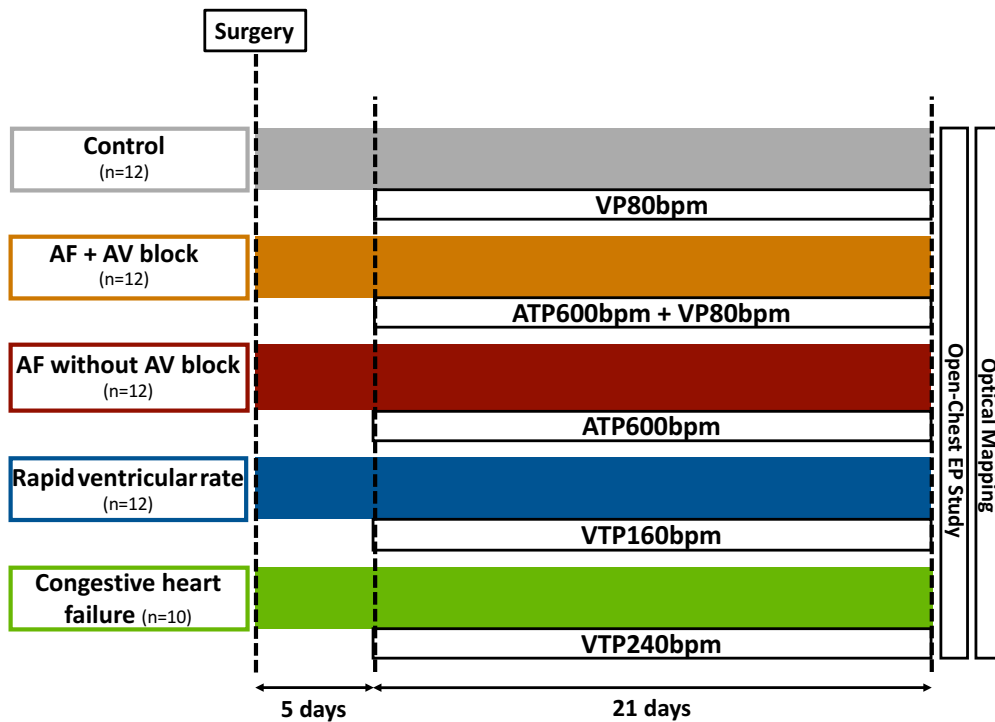
1. Andrade J, Khairy P, Dobrev D, Nattel S. The clinical profile and pathophysiology of atrial fibrillation: relationships among clinical features, epidemiology, and mechanisms. *Circ. Res.* 2014;114:1453–1468.
2. Heijman J, Algalarrondo V, Voigt N, et al. The value of basic research insights into atrial fibrillation mechanisms as a guide to therapeutic innovation: a critical analysis. *Cardiovasc. Res.* 2016;109:467–479.
3. Nattel S, Harada M. Atrial remodeling and atrial fibrillation: recent advances and translational perspectives. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014;63:2335–2345.
4. Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, Allessie MA. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation* 1995;92:1954–1968.
5. Yue L, Feng J, Gaspo R, Li GR, Wang Z, Nattel S. Ionic remodeling underlying action potential changes in a canine model of atrial fibrillation. *Circ. Res.* 1997;81:512–525.
6. Van Wagoner DR, Pond AL, McCarthy PM, Trimmer JS, Nerbonne JM. Outward K⁺ current densities and Kv1.5 expression are reduced in chronic human atrial fibrillation. *Circ. Res.* 1997;80:772–781.
7. Burstein B, Qi X-Y, Yeh Y-H, Calderone A, Nattel S. Atrial cardiomyocyte tachycardia alters cardiac fibroblast function: a novel consideration in atrial remodeling. *Cardiovasc. Res.* 2007;76:442–452.

8. Martins RP, Kaur K, Hwang E, et al. Dominant frequency increase rate predicts transition from paroxysmal to long-term persistent atrial fibrillation. *Circulation* 2014;129:1472–1482.
9. Raymond-Paquin A, Nattel S, Wakili R, Tadros R. Mechanisms and Clinical Significance of Arrhythmia-Induced Cardiomyopathy. *Can. J. Cardiol.* 2018;34:1449–1460.
10. Van Gelder IC, Groenveld HF, Crijns HJGM, et al. Lenient versus strict rate control in patients with atrial fibrillation. *N. Engl. J. Med.* 2010;362:1363–1373.
11. Li D, Fareh S, Leung TK, Nattel S. Promotion of atrial fibrillation by heart failure in dogs: atrial remodeling of a different sort. *Circulation* 1999;100:87–95.
12. Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, Power J, Allessie MA. Electrical remodeling due to atrial fibrillation in chronically instrumented conscious goats: roles of neurohumoral changes, ischemia, atrial stretch, and high rate of electrical activation. *Circulation* 1997;96:3710–3720.
13. Dzeshka MS, Lip GYH, Snezhitskiy V, Shantsila E. Cardiac Fibrosis in Patients With Atrial Fibrillation: Mechanisms and Clinical Implications. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2015;66:943–959.
14. Bauer A, McDonald AD, Donahue JK. Pathophysiological findings in a model of persistent atrial fibrillation and severe congestive heart failure. *Cardiovasc. Res.* 2004;61:764–770.

15. Avitall B, Bi J, Mykytsey A, Chicos A. Atrial and ventricular fibrosis induced by atrial fibrillation: evidence to support early rhythm control. *Heart Rhythm* 2008;5:839–845.
16. Aguilar M, Nattel S. Taking the Pulse of Atrial Fibrillation: A Practical Approach to Rate Control. *Can. J. Cardiol.* 2018;34:1526–1530.
17. Andrade JG, Macle L, Nattel S, Verma A, Cairns J. Contemporary Atrial Fibrillation Management: A Comparison of the Current AHA/ACC/HRS, CCS, and ESC Guidelines. *Can. J. Cardiol.* 2017;33:965–976.
18. Segerson NM, Sharma N, Smith ML, et al. The effects of rate and irregularity on sympathetic nerve activity in human subjects. *Heart Rhythm* 2007;4:20–26.
19. Vo Thang T-T, Thibault B, Finnerty V, et al. Canine left ventricle electromechanical behavior under different pacing modes. *J. Interv. Card. Electrophysiol. Int. J. Arrhythm. Pacing* 2012;35:11–17.
20. Greiser M, Neuberger H-R, Harks E, et al. Distinct contractile and molecular differences between two goat models of atrial dysfunction: AV block-induced atrial dilatation and atrial fibrillation. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2009;46:385–394.

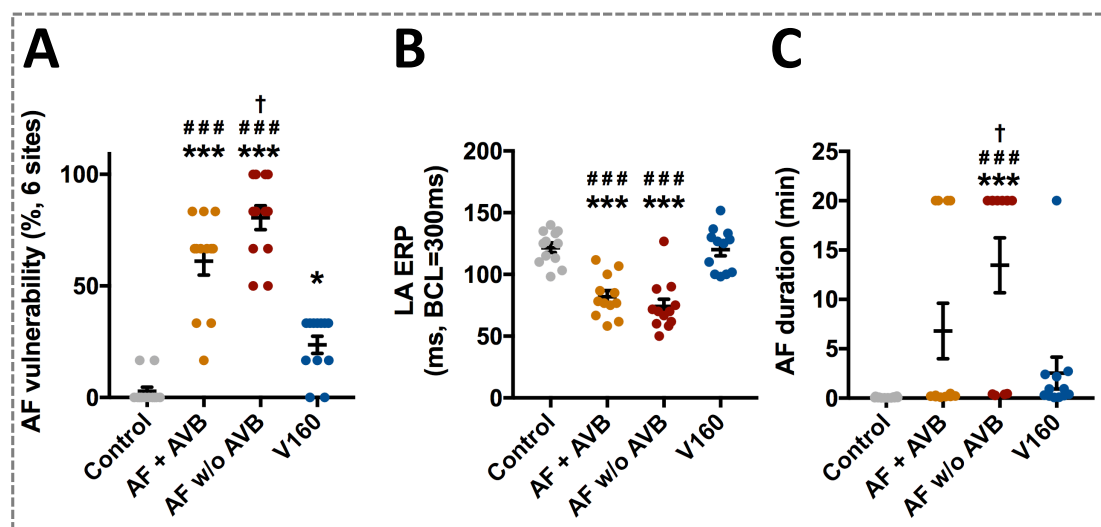
Figures

Figure 3 - 1. Schematic of groups and interventions



ATP indicates atrial tachypacing; VP indicates ventricular pacing; VTP indicates ventricular tachypacing; AF, atrial fibrillation, AV block, atrio-ventricular block.

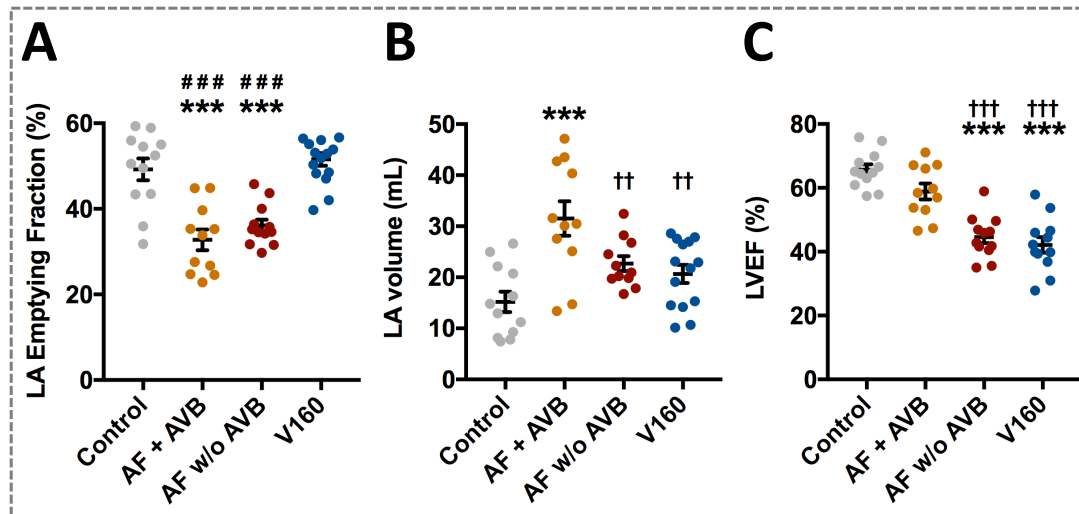
Figure 3 - 2. Distinctive effects of lone atrial tachyarrhythmia, rapid ventricular rate and AF on AF features



LA ERP: left atrial effective refractory period.

*** $P < 0.001$ versus Control, by 1-way ANOVA with Tukey test. ### $P < 0.001$ versus V160, by 1-way ANOVA with Tukey test. † $P < 0.05$ versus AF + AV block, by 1-way ANOVA with Tukey test.

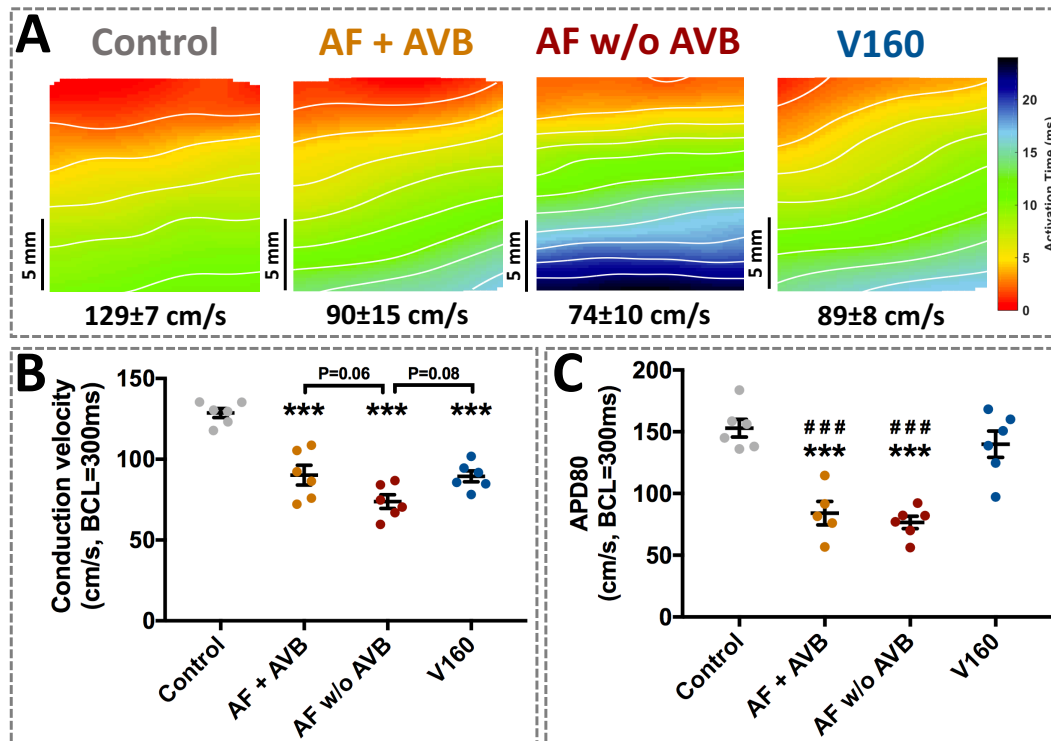
Figure 3 - 3. Distinctive effects of lone atrial tachyarrhythmia, rapid ventricular rate and AF on electrocardiographic features



LA: left atrium; LVEF: left ventricular ejection fraction.

***P<0.001 versus Control, by 1-way ANOVA with Tukey test. ####P<0.001 versus V160, by 1-way ANOVA with Tukey test. †††P<0.001 versus AF + AV block, by 1-way ANOVA with Tukey test.

Figure 3 - 4. Distinctive effects of lone atrial tachyarrhythmia, rapid ventricular rate and AF on electrophysiological features at the endpoint ex vivo optical mapping

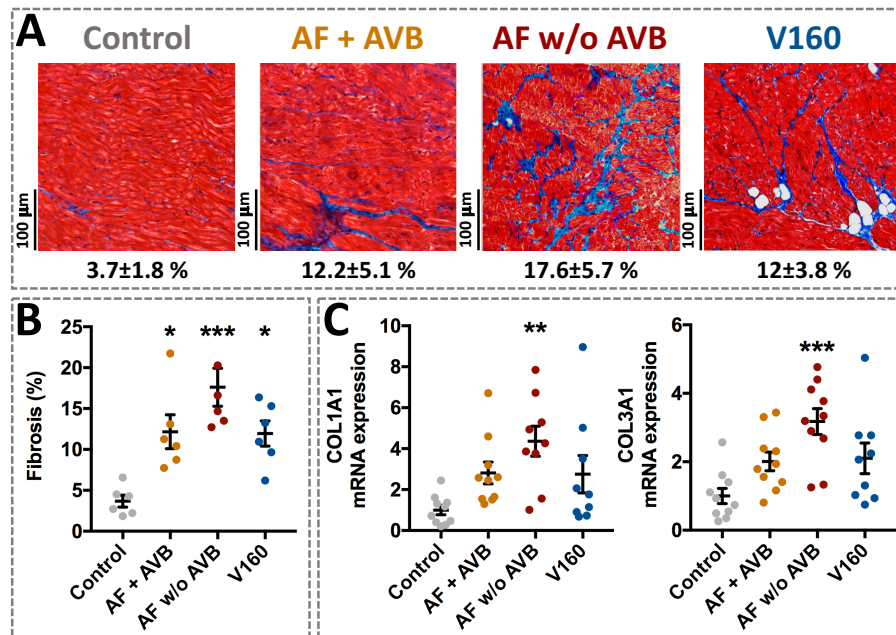


Panel A: activation mapping assessed by optical mapping. Each line is separated by a 2 ms-interval.

***P<0.001 versus Control, by 1-way ANOVA with Tukey test. ####P<0.01 versus V160, by 1-way ANOVA with Tukey test.

BCL: basal cycle length.

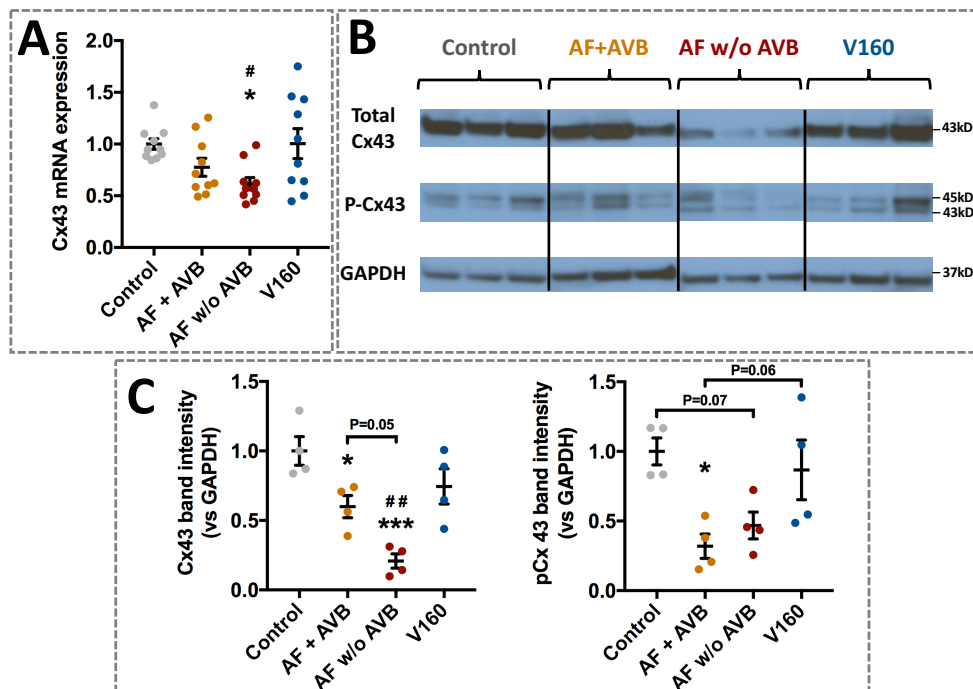
Figure 3 - 5. Distinctive effects of lone atrial tachyarrhythmia, rapid ventricular rate and AF on atrial fibrotic process



A) Examples of original photomicrographs. B) Mean data. C) Collagen genes *Coll1A1* and *Col3A1*.

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 versus Control, by 1-way ANOVA with Tukey test.

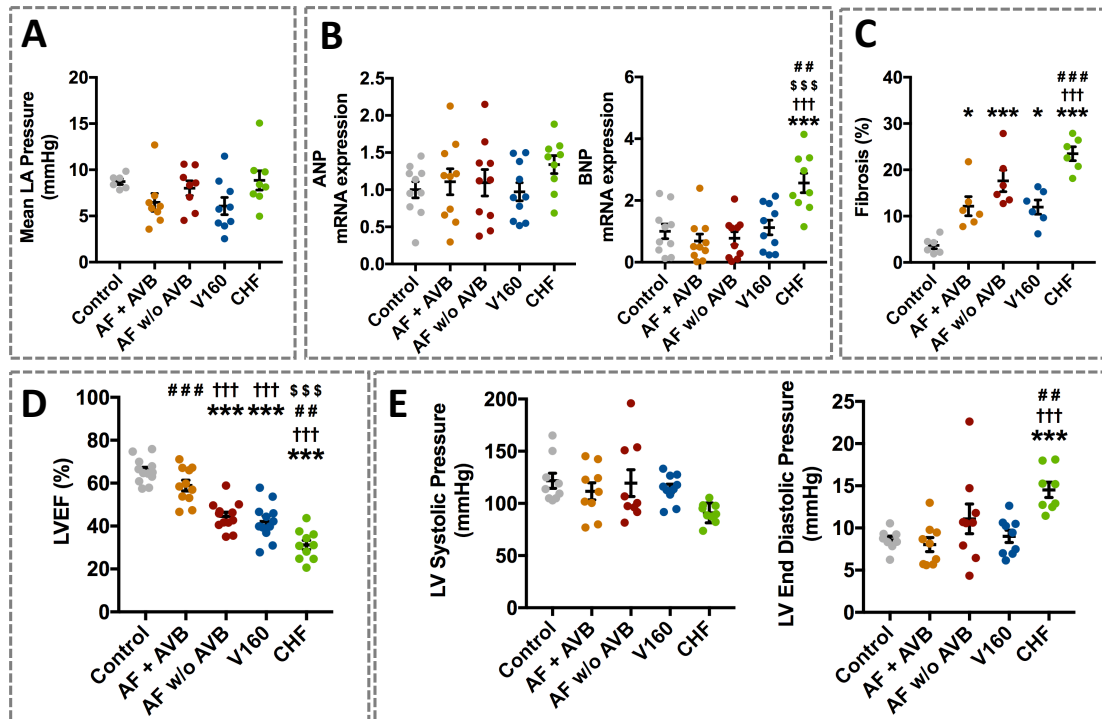
Figure 3 - 6. Distinctive effects of lone atrial tachyarrhythmia, rapid ventricular rate and AF on connexin 40 expression



A) mRNA connexin 43 expression. B) Western Blot bands. C) Total protein connexin 43 and phosphorylated-connexin 43 expression.

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 versus Control, by 1-way ANOVA with Tukey test. #P<0.05, ##P<0.01 versus V160, by 1-way ANOVA with Tukey test.

Figure 3 - 7. Distinctive effects of congestive heart failure compared to atrial fibrillation on atrial and ventricular function

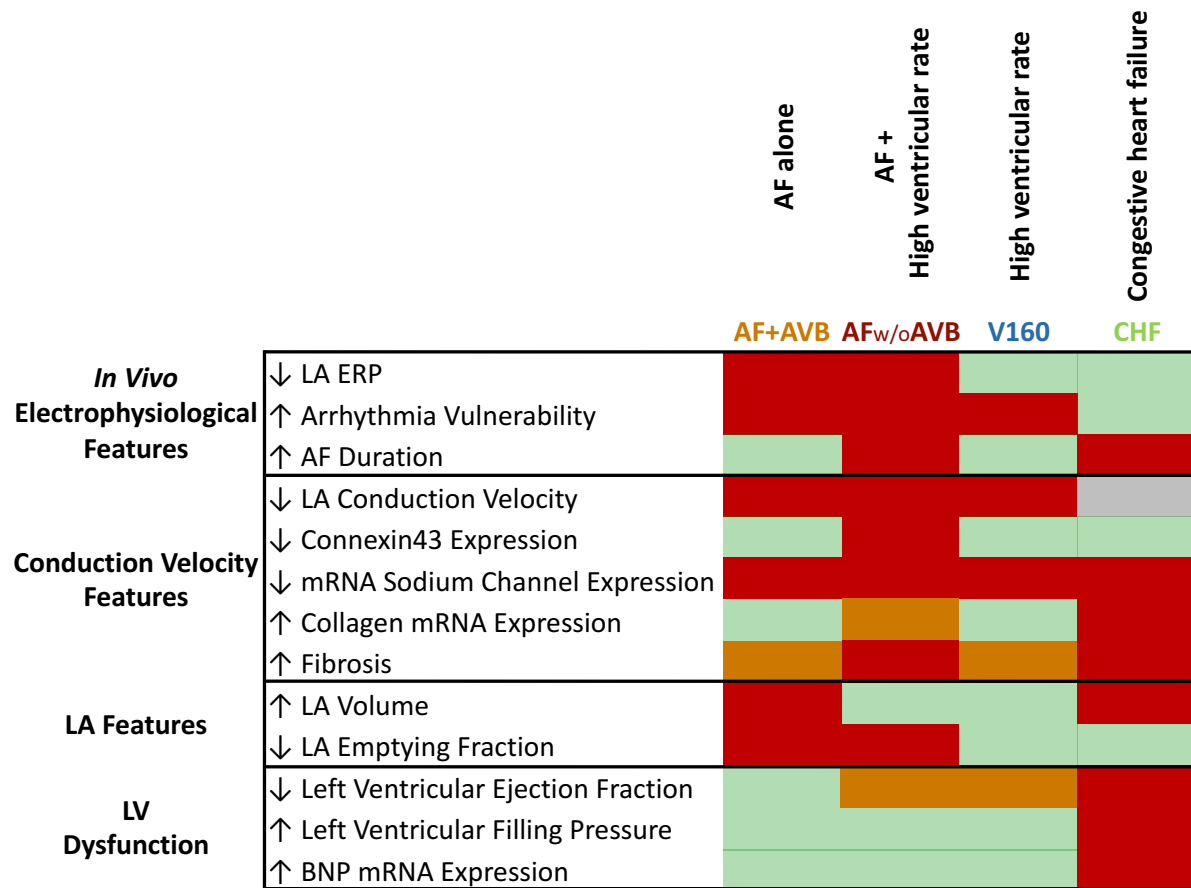


A) Mean LA pressure. B) Natriuretic peptides mRNA expression. C) Atrial fibrosis quantification. D) Left ventricular ejection fraction. E) Hemodynamic left ventricular features.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus Sham, by 1-way ANOVA with Tukey test. ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ versus V160, by 1-way ANOVA with Tukey test. ††† $P < 0.01$ versus AF + AV block, by 1-way ANOVA with Tukey test. \$\$\$ $P < 0.001$ versus AF without AV block by 1-way ANOVA with Tukey test.

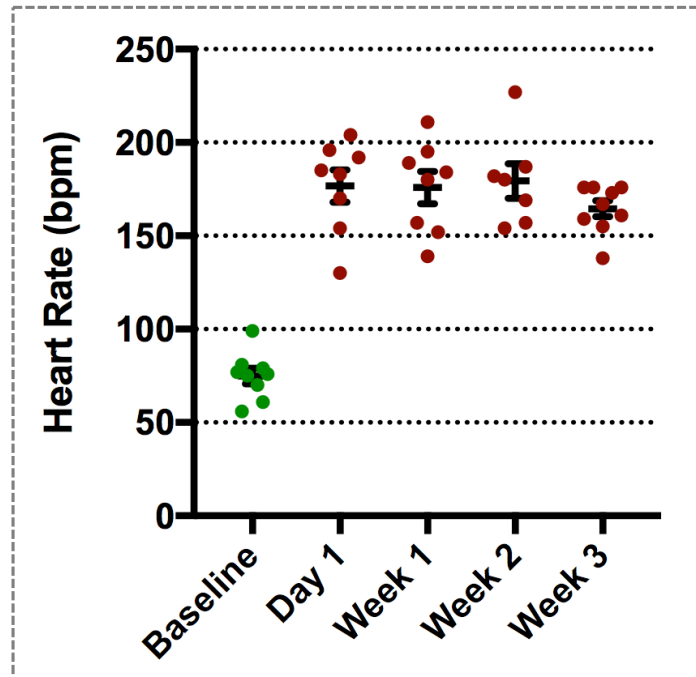
LA: left atrium; ANP: atrial natriuretic peptide; BNP: brain natriuretic peptide; LVEF: left ventricular ejection fraction; LV: left ventricle.

Figure 3 - 8. Central figure - Distinctive role of atrial arrhythmia and ventricular response in atrial fibrillation induced atrial remodeling



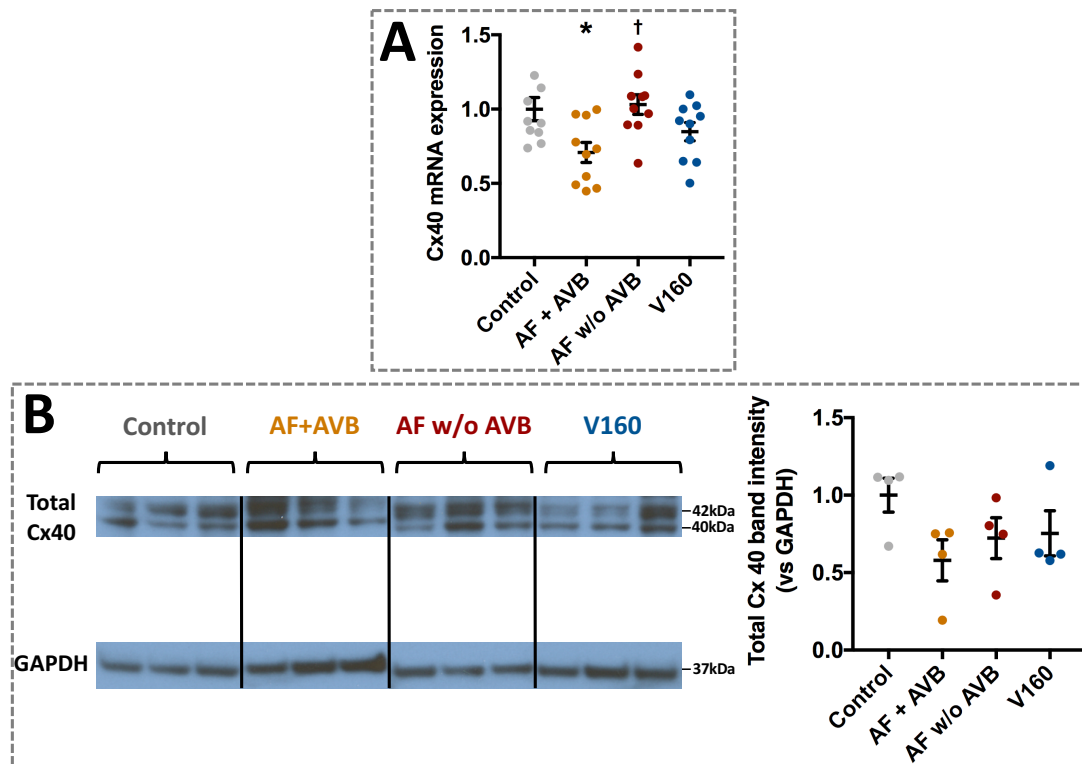
AF: atrial fibrillation; AVB: atrio-ventricular block; BNP: brain natriuretic peptide; CHF: congestive heart failure; ERP: effective refractory period; LA: left atrium; AF: atrial fibrillation; LV: left ventricle; V160: ventricular pacing at 160bpm.

Online Figure 3 - 1. Ventricular rate secondary to 600bpm atrial tachypacing during the follow-up in AF without AVB-group



Holter ECG was managed at baseline, 24 hours after the beginning of the atrial tachypacing, then after 1, 2 and 3 weeks of follow-up.

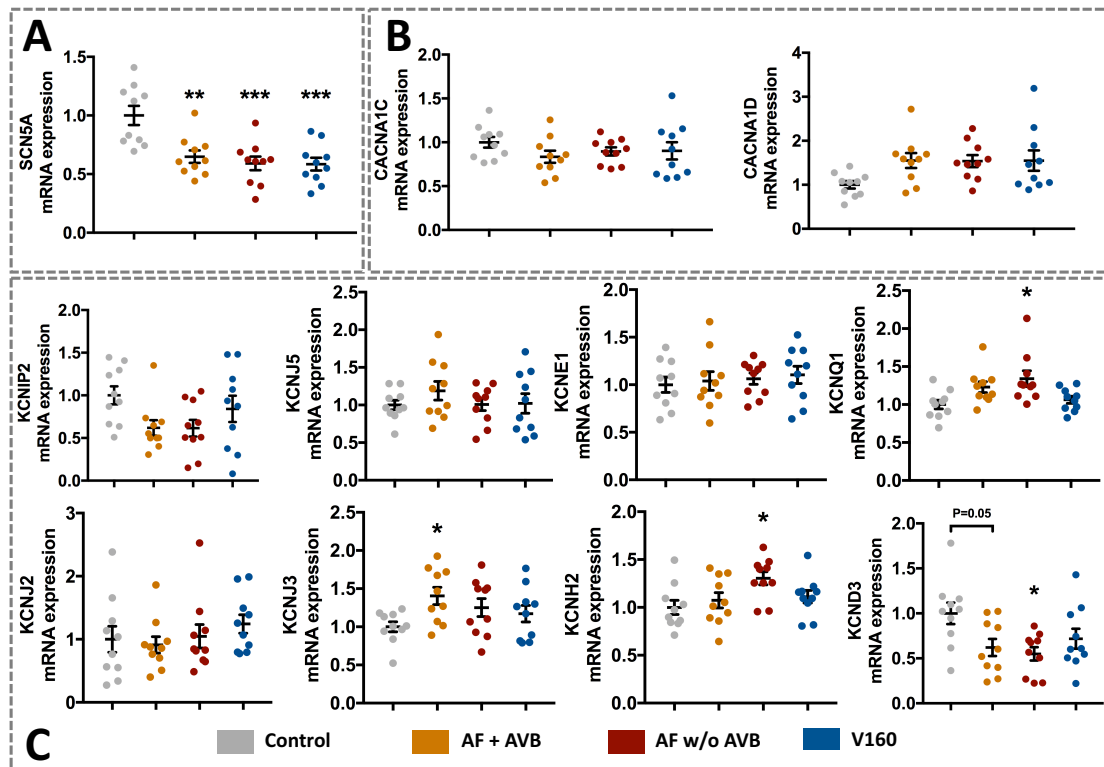
Online Figure 3 - 2. Different connexin 40 expression among the groups



A) mRNA connexin 40 expression. B) Total protein connexin 40 expression.

* $p < 0.05$ versus Sham, by 1-way ANOVA with Tukey test. † $P < 0.05$ versus AF + AV block, by 1-way ANOVA with Tukey test.

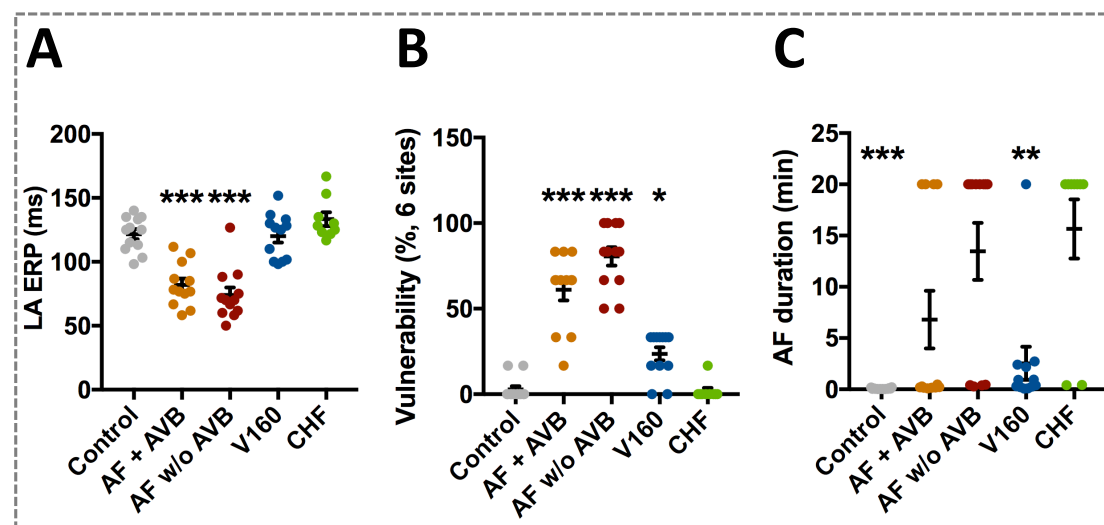
Online Figure 3 - 3. Distinctive effects of lone atrial tachyarrhythmia, rapid ventricular rate and AF on mRNA expression of various ion channel



A) Sodium channel subunit. B) Sodium channel subunit. C) Potassium channel subunit.

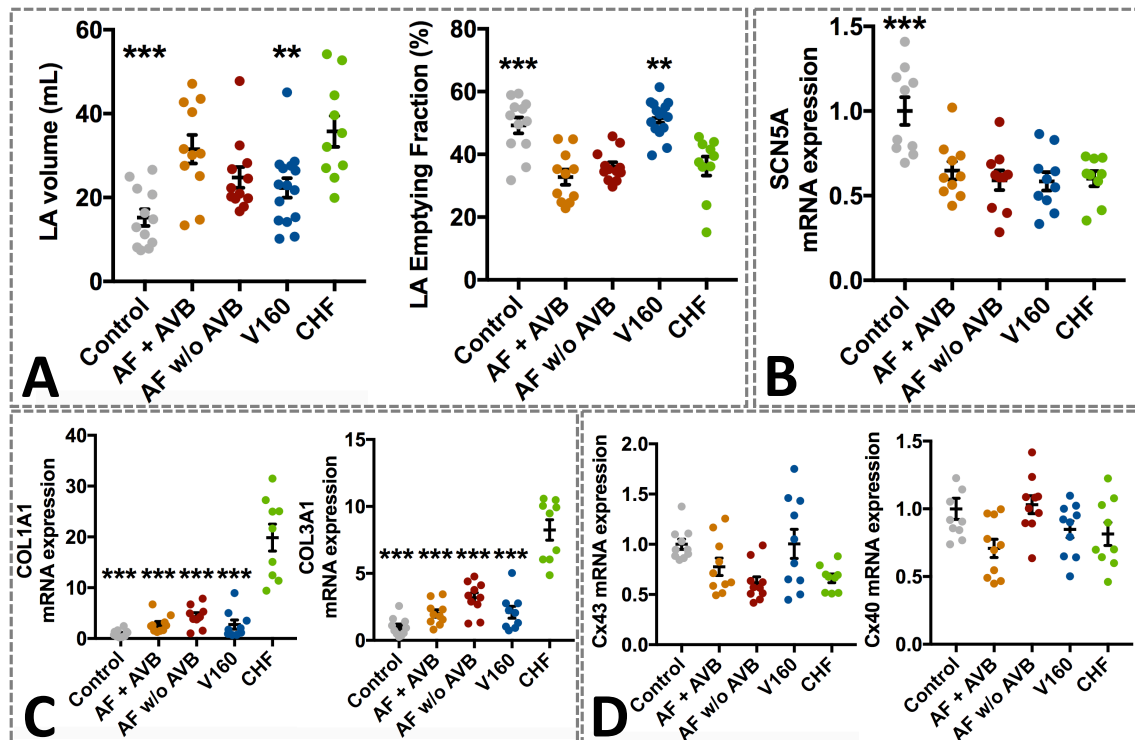
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus Sham, by 1-way ANOVA with Tukey test.

Online Figure 3 - 4. Distinctive effects of congestive heart failure compared to atrial fibrillation on AF features



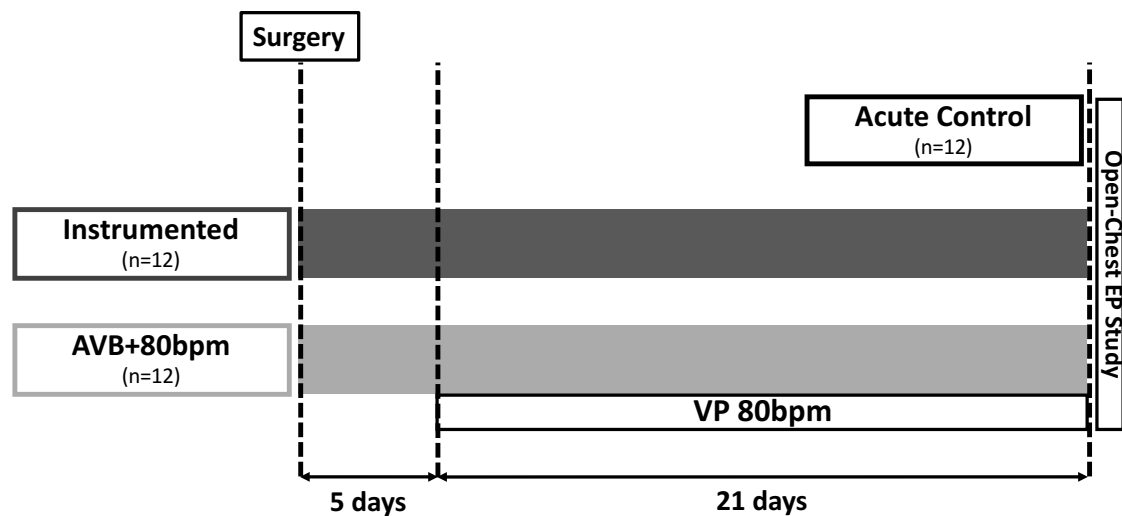
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $P < 0.001$ versus CHF, by 1-way ANOVA with Tukey test.

Online Figure 3 - 5. Distinctive effects of congestive heart failure compared to atrial fibrillation on atrial function and atrial structure



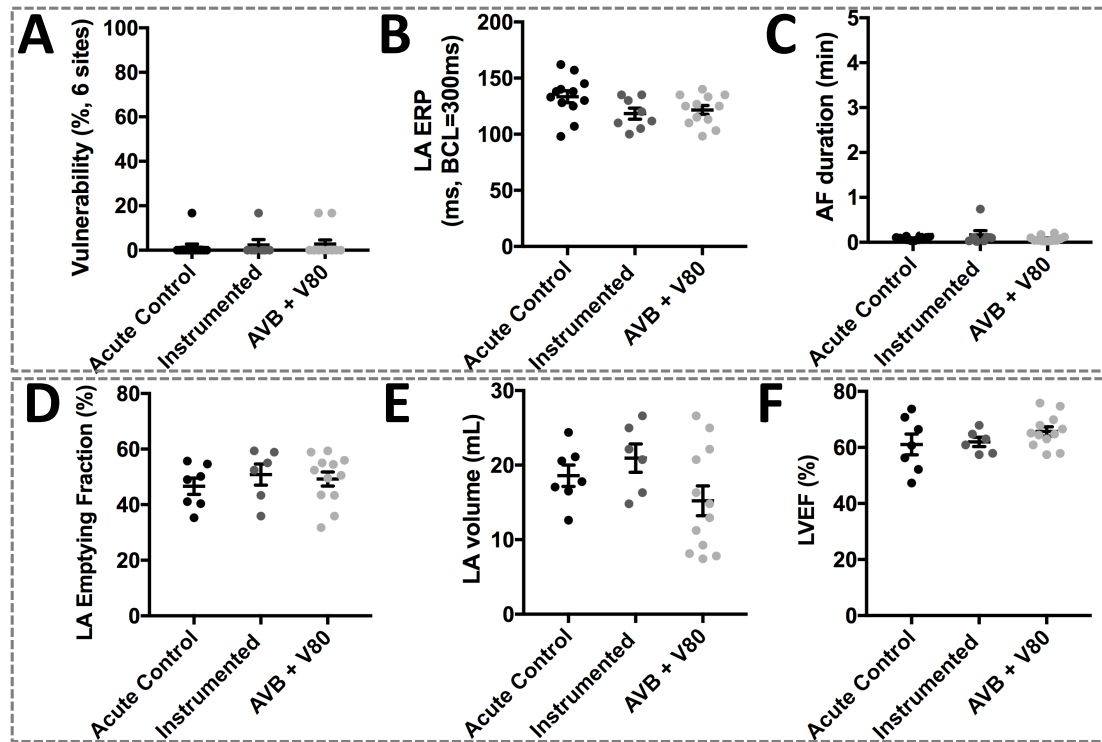
A) Echocardiography data. B) mRNA expression of sodium channel subunit. C) Fibrotic process via collagen genes *Coll1A1* and *Col3A1*. D) mRNA connexin 40 and 43 expression. *** P<0.001 versus CHF, by 1-way ANOVA with Tukey test.

Online Figure 3 - 6. Schematic of groups and interventions



VP indicates ventricular pacing; AVB, atrio-ventricular block.

Online Figure 3 - 7. Distinctive effects of atrio-ventricular dissociation and ventricular pacing and instrumentation without pacing compared to an acute control group



A), B) and C) In vivo electrophysiological study. D), E) and F) Echocardiography data.

**CHAPITRE 4 - Effet de la
cilnidpine, un bloqueur calcique de
type N et L, sur la modulation du
remodelage atrial autonome,
électrique et structurel en cas de
fibrillation atriale**

Mise en contexte

Le rôle du remodelage atrial électrique et structurel dans la survenue et le maintien de la FA est précisément caractérisé. Cependant, peu de thérapeutiques pharmacologiques anti-remodelantes atriales n'ont été évaluées et leur efficacité n'est pas clairement établie. La cilnidipine est une molécule inhibant les courants calciques de type N et L, jouant ainsi un rôle de modulation du SNA. Le rôle de cette molécule cliniquement disponible dans la limitation du remodelage atrial en cas de FA, et de son effet anti-arythmique induit n'a jamais été évalué. L'objectif de la présente étude était de caractériser l'effet anti-remodelant atrial de la cilnidipine en cas de FA chronique, en s'appuyant sur un modèle chronique canin avec un suivi d'une et trois semaines.

Tajiri, K., Guichard, J.-B., Qi, X., Xiong, F., Naud, P., Tardif, J.-C., Da Costa, A.,

Aonuma, K., Nattel, S. (2019)

An N-/L-Type Calcium Channel Blocker, Cilnidipine, Suppresses Autonomic,

Electrical and Structural Remodeling Associated with Atrial Fibrillation

doi:10.1093/cvr/cvz136

Contribution des auteurs

K.T. et J.-B. G. ont formulé l'hypothèse, conceptualisé l'étude et analysé les données et mis en place les différents modèles chroniques *in vivo*. K.T., J.-B. G., X.Q. et P.N. ont conceptualisé les expériences *in vitro* mises en place au cours de l'étude. K.T., J.-B. G. et F.X. ont effectué les expériences primaires. S.N. et K.A. ont participé à la formulation de l'hypothèse, supervisé les travaux et discuté les résultats. S.N. K.A. et A.D.C. ont édité le document. Tous les auteurs approuvent la version finale du manuscrit ainsi que tous les aspects du travail.

**An N-/L-Type Calcium Channel Blocker, Cilnidipine, Suppresses
Autonomic, Electrical and Structural Remodeling Associated with
Atrial Fibrillation**

Kazuko Tajiri, MD, PhD^{1,2}*, Jean-Baptiste Guichard, MD^{1,3}*, Xiaoyan Qi, PhD¹,
Feng Xiong, PhD¹, Patrice Naud, PhD¹, Jean-Claude Tardif, MD,¹ Antoine Da Costa,
MD, PhD³, Kazutaka Aonuma, MD, PhD², Stanley Nattel, MD^{1,4,5,6}

¹Department of Medicine and Research Center Montreal Heart Institute and Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada; ²Department of Cardiology, Faculty of Medicine, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan; ³Department of Cardiology, University Hospital of Saint-Étienne, University Jean Monnet, Saint-Étienne, France; ⁴Department of Pharmacology and Therapeutics, McGill University Montreal, Canada; ⁵Institute of Pharmacology, West German Heart and Vascular Center, Faculty of Medicine, University Duisburg-Essen, Essen, Germany; ⁶IHU LIRYC and Fondation Bordeaux Université, Bordeaux, France.

*: These authors contributed equally to this work

Short title: N-type Calcium Channel Block and Atrial Remodeling

Word count: 5741

Corresponding author: Stanley Nattel, MD, Department of Medicine and Research Center Montreal Heart Institute and Université de Montréal, 5000 Belanger St E, Montreal H1T 1C8, Quebec, Canada. E-mail : stanley.nattel@icm-mhi.org; Phone : 514-376-3330 ext 3587 ; Fax: 514-593-2493; Twitter handle: @StanleyNattel

Abstract

Aims - Autonomic dysfunction can promote atrial fibrillation (AF) and results from AF-related remodeling. N-type Ca^{2+} -channels (NTCCs) at sympathetic-nerve terminals mediate Ca^{2+} -entry that triggers neurotransmitter release. AF-associated remodeling plays an important role in AF pathophysiology but the effects of NTCC-inhibition on such remodeling is unknown. Here, we investigated the ability of a clinically available Ca^{2+} -channel blocker (CCB) with NTCC blocking activity to suppress the arrhythmogenic effects of AF-promoting remodeling in dogs.

Methods and Results - Mongrel dogs were kept in AF by right-atrial tachypacing at 600 bpm. Four groups were studied under short-term AF (7 days): 1) Shams, instrumented but without tachypacing (n = 5); 2) a placebo group, tachypaced while receiving placebo (n = 6); 3) a control tachypacing group receiving nifedipine (10 mg orally twice-daily; n = 5), an L-type CCB; and 4) a cilnidipine group, subjected to tachypacing and treatment with cilnidipine (10 mg orally twice-daily; n = 7), an N-/L-type CCB. With cilnidipine-therapy, dogs with 1-week-AF showed significantly reduced autonomic changes reflected by heart-rate variability (decreases in RMSSD and pNN50) and plasma norepinephrine concentrations. In addition, cilnidipine-treated dogs had decreased extracellular-matrix gene expression versus nifedipine-dogs. As in previous work, atrial fibrosis had not yet developed after 1-week AF, so three additional groups were studied under longer-term AF (21 days): 1) Shams, instrumented without tachypacing or drug therapy (n = 8); 2) a placebo-group, tachypaced while receiving placebo (n = 8); 3) a cilnidipine-group, subjected to tachypacing during treatment with cilnidipine (10 mg twice-daily; n = 8). Cilnidipine attenuated 3-week-AF effects on AF duration and atrial conduction, and suppressed AF-induced increases in fibrous-tissue

content, decreases in connexin-43 expression and reductions in sodium-channel expression.

Conclusions - Cilnidipine, a commercially available NTCC-blocking drug, prevents AF-induced autonomic, electrical and structural remodeling, along with associated AF-promotion.

Key words - atrial fibrillation, N-type Ca^{2+} channel, Ca^{2+} channel blocker, autonomic nervous system, cilnidipine, fibrosis.

Introduction

Atrial fibrillation (AF) is the most common arrhythmia in clinical practice, and is associated with increased morbidity and mortality (1, 2). Classical anti-arrhythmic agents have potential adverse effects and are relatively ineffective. Safer and/or more efficacious drugs are needed for AF treatment.

A wide range of voltage-dependent Ca^{2+} channels have been described, including L-type Ca^{2+} -channels (LTCCs) responsible for cardiac excitation-contraction coupling, T-type Ca^{2+} -channels (TTCCs) involved in cardiac automaticity, and N-type neuronal Ca^{2+} -channels (NTCCs) (3). NTCCs regulate the release of several neurotransmitters, including glutamate, γ -aminobutyric acid, acetylcholine, dopamine, and norepinephrine (reviewed in (4)). In the cardiovascular system, NTCCs are particularly involved in the control of sympathetic function (5). Norepinephrine is synthesized in neuronal cell bodies. It is then transported and concentrated in vesicles located in nerve-varicosities adjacent to adrenergic receptors, pending release upon neural depolarization via Ca^{2+} -entry through NTCCs (6–8).

Autonomic nervous system (ANS) activity regulates atrial electrophysiology and risk/persistence of AF. ANS dysfunction can promote AF and is a consequence of AF-related remodeling (9). Sympathetic nerve activity is associated with the pathogenesis of AF (9, 10). Norepinephrine released from sympathetic nerve terminals activates cardiomyocyte β -adrenergic receptors, causing abnormal Ca^{2+} -handling and arrhythmogenesis (9). Strategies to reduce sympathetic nerve activity may thus have protective value against AF.

Several studies have demonstrated that pharmacological blockade or genetic deletion of NTCCs alters sympathetic nerve activity. Cilnidipine blocks both L- and N-

type Ca^{2+} -channels, and is clinically used as an antihypertensive drug. Based on the role of the ANS in AF and atrial remodeling (9), we hypothesized that NTCC-blockade might protect against AF-associated remodeling. Accordingly, this study evaluated the effects of NTCC-blockade on the development of atrial remodeling and AF vulnerability in dogs with electrically-maintained AF.

Methods

Animal model

Animal handling procedures were approved by the local Animal Research Ethics Committee and complied with National Institutes of Health Guidelines for the care and use of laboratory animals. Dogs were initially anesthetized with ketamine (5.3 mg/kg, intravenous), diazepam (0.25 mg/kg, intravenous), and isoflurane (1.5%), intubated, and ventilated. A pacing lead was inserted into the right atrial appendage (RAA) via a jugular vein under fluoroscopic guidance and attached to a subcutaneous pacemaker implanted in the neck. After 72 hours for postoperative recovery, AF was maintained continuously by atrial tachypacing (AT-P) at 600 bpm for 7 days (short-term AF groups) or 21 days (longer-term AF groups).

Experimental groups

Forty-seven mongrel dogs (weight, 23.4-39.4 kg) were studied in the following seven groups (**Figure 4 - 1**). Short-term AF dogs: (1) a Sham group, instrumented but without AT-P or drug therapy (n = 5); (2) a placebo AF-group, maintained in AF by AT-P with placebo twice a day (n = 6); (3) a control AF-group receiving nifedipine (10 mg orally twice a day; n = 5); and (4) a cilnidipine AF-group, treated with cilnidipine (10 mg orally twice a day; n = 7). Longer-term AF dogs: (5) a Sham group, instrumented but without AT-P or drug therapy (n = 8); (6) a placebo group, maintained in AF by AT-P with placebo twice a day (n = 8); and (7) a cilnidipine AF-group, treated with cilnidipine (10 mg orally twice a day; n = 8). Drug therapy was initiated 3 days before tachypacing onset. Nifedipine and cilnidipine were purchased from pharmaceutical companies (Bayer Yakuhin, Ltd, Japan and Mochida Pharmaceutical

Co. Ltd, Japan, respectively). The experimenter was blinded to dog therapy-assignment until the experiments were completed and data analyzed.

Open-chest electrophysiological study (EPS)

Dogs were anesthetized with morphine (2 mg/kg, s.c.) and α -chloralose (120 mg/kg, i.v. load, 29.25 mg/kg/h maintenance), and mechanically ventilated. Body temperature was maintained at 37°C. The pacemaker was deactivated and a median sternotomy performed. In dogs with sustained AF despite pacemaker-cessation on the open-chest study day, AF was direct-current (DC) cardioverted for the electrophysiological study (EPS). Bipolar electrodes were hooked into the RAA and LAA for recording and stimulation. In short-term AF-dogs, a mapping-electrode array was sutured to the right atrial epicardial surface to measure conduction velocity. Left-atrial (LA) effective refractory period (ERP) was measured at basic cycle lengths of 300 ms with 8 basic (S1) stimuli, followed by an S2 with 5-ms decrements (all pulses twice-threshold, 2-ms). The vulnerability to AF induction at each site was defined by the ability of a single S2 to induce, in a reproducible fashion, AF that lasted >1 second. Overall vulnerability in each dog was defined as the percentage of 6 pacing sites at which AF was inducible. To measure AF-duration as an index of AF-promotion by remodeling, AF was induced with 2-second burst pacing (25-Hz, 4 \times threshold-current). Mean AF-duration in each dog was based on 10 AF-inductions. Prolonged AF (>20 min) was terminated by direct-current cardioversion. A 20-min rest period was allowed before continuing measurements. If prolonged AF was induced twice, no further AF-induction was performed. At the end of each experiment, while under continued anesthesia, dogs were euthanized via exsanguination by cutting open the aorta to remove the heart for further ex-vivo dissection and/or study.

Heart rate variability (HRV)

In placebo, nifedipine and cilnidipine short-term AF groups, the ECG was continuously recorded for 24 hours with Holter monitoring. We examined variations in heart rate on day 2 (2 days after the start of drug administration, but before AT-P) and during AF on day 9 (after 1 week of AT-P). HRV measurements included: AVNN (average of all NN intervals), RMSSD (root mean square of successive differences), and pNN50 (the proportion of pairs of NNs that differ by more than 50 ms divided by total number of NNs). To obtain these results, we analyzed 5-minute data segments during each hour (e.g. 8:00-8:05, 9:00-9:05, 10:00-10:05, etc.) and then calculated the average of the results for each 3 consecutive-hour block (e.g. 5 am-8 am, 8 am-11 am, etc). The first analyzable 5 consecutive minutes of each hour (i.e. free of excessive noise and/or artifacts) were used for analysis.

Measurement of plasma norepinephrine concentration

In placebo-, nifedipine-, and cilnidipine-treated 1-week AF groups, citrated blood samples from a femoral vein were obtained before drug administration and after 7-day AT-P. Plasma was collected and stored at -80°C. The norepinephrine concentration was measured with an enzyme-linked immunosorbent assay kit (Labor Diagnostika Nord GmbH & Co. KG, Germany).

Real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (PCR)

Isolated dog LA-samples were homogenized in a lysis buffer, and RNA was isolated with Nucleospin RNA II (Macherey Nagel, Germany), including DNase treatment to prevent genomic contamination. Messenger RNAs (mRNAs) were

reverse-transcribed with the High-Capacity Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems). Quantitative PCR was performed with TaqMan probes and primers from Applied Biosystems for: housekeeping genes HPRT and β 2-microglobulin, *KCNJ2*, collagen-1 (*COL1A1* and *COL1A2*), collagen-3 (*COL3A1*), fibronectin-1(*FBNI*), and fibrillin-1 (*FNI*). SyBr green primers were used to quantify: LTCC (*CACNA1C*), Kv1.4 (*KCNA4*), Kv4.3 (*KCND3*), ryanodine receptors (*RYR2*), *SERCA2A*, phospholamban (*PLN*), the Na⁺-Ca²⁺ exchanger (*NCX1*), NTCC (*CACNA1B*), connexin-43 (*GJA1*) and connexin-40 (*GJA5*). The geometric-mean expression of HPRT and β 2-microglobulin was used for normalization. Quantitative PCR reactions were performed with Taqman Gene Expression Master Mix (Applied Biosystems) on a Stratagene MX3000. Gene-expression values were calculated by the $2^{-\Delta Ct}$ method and normalized based on the Sham group.

Western blot

Protein samples were separated by electrophoresis on 4-20% sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gels and transferred electrophoretically onto polyvinylidene difluoride membranes. Membranes were blocked in a Tris-buffered saline (TBS) containing 0.2% (volume/volume) Tween-20 and 5% (weight/volume) BSA. They were then incubated overnight at 4°C with primary antibodies diluted in TBS containing 0.2% Tween-20 and 1% BSA. After washing with TBS-Tween/1% BSA, membranes were hybridized with horseradish peroxidase–conjugated secondary antibody. Immunoreactive bands were detected by electrochemiluminescence with BioMax MS/MR films. Protein quantification was obtained with Quantity One software (Bio-Rad). All expression data are relative to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase staining for the same samples on the same gels. Antibodies used were:

GJA1 (AB1727, Merck Millipore), P-Cx43(Ser368) (48-3000, Thermofischer Scientific), GJA5 (36-4900, Thermofischer Scientific).

Histology

Sections (6- μ m) were cut at room temperature and stained with Masson's Trichrome. Stained images were digitized and the fibrotic area was analyzed with Image Pro 9.3 (Media Cybernetics, Rockville, MD). LA-fibrosis was quantified by an observer blinded to group and expressed as percent cross-sectional area.

Echocardiography

Transthoracic echocardiography was performed at baseline and on the last study day prior to euthanasia in longer-term AF dogs. An M3S probe (2.0-4.3 MegaHerz) and a Vivid 7 Dimension system (GE Healthcare Ultrasound, Horten, Norway) were used, under sedation with acepromazine (0.07 mg/kg i.m.). The biplane Simpson method was used to determine LV volumes and LV ejection fraction (LVEF). The average of three to six cardiac cycles was used for each measurement, with the operator blinded to treatment assignment.

Optical mapping

The LA was dissected free and perfused through its coronary artery with Krebs solution (mM: 120 NaCl, 4 KCl, 1.2 MgSO₄ 0.7, 1.2 KH₂PO₄, 25 NaHCO₃, 5.5 glucose, 1.25 CaCl₂, 95% O₂/5% CO₂) at 30 mL/min and 37°C. Any leak from arterial branches was ligated with silk thread to maintain adequate perfusion. After 30 min for stabilization and electrical/mechanical decoupling with blebbistatin (15 μ M), the heart was loaded with di-4-ANEPPS (Biotium, Inc., Hayward, California). A charge-coupled

device (CardioCCD, RedShirtImaging, LLC, Decatur, Georgia) was used to record LA free wall fluorescence at 2 kHz focused on a 15X15-mm square region. Bipolar electrodes were used to pace the left atrial appendage. Optical maps were obtained during $1.5 \times$ threshold current 2-ms stimulation at a cycle length of 300 ms. Data were analyzed with custom-written software algorithms.

Data analysis

Continuous variables are expressed as mean \pm SEM. Multiple group comparisons were obtained with 1-way ANOVA and Tukey tests (for normally distributed data) or Steel-Dwass test (for non-normally distributed data) for non-repeated measures. Repeated-measures analyses were performed for normally distributed data with 2-way ANOVA and Tukey tests. Distribution normality was tested with a Shapiro-Wilk test. Two-tailed $P < 0.05$ indicated statistical significance. Wherever possible, group data are shown in figures as dot-plots of individual-animal results, along with group means and standard errors as horizontal lines. The authors had full access to and take responsibility for the integrity of the data. All authors have read and agree to the manuscript as written.

Results

Effects of NTCC-blockade on remodeling caused by 7 days of AF

Hemodynamic and electrophysiologic changes

The characteristics of experimental animals are summarized in **Table 4 - 1**. Body weight averaged about 30 kg and did not differ among groups. There were no significant differences in systolic or diastolic blood pressures, whereas LV end-diastolic, LA, and RA pressures were increased in the dogs with 7-day AF.

Placebo-, nifedipine-, and cilnidipine-treated dogs subjected to 7-day AF showed significantly increased vulnerability to AF induction (**Figure 4 - 2. A**). There were no statistically-significant differences in AF duration among the groups (**Figure 4 - 2. B**). Placebo-treated dogs subjected to 7-day AF had significantly reduced ERP (**Figure 4 - 2. C**). This effect was unaltered by nifedipine, but was significantly attenuated by cilnidipine (**Figure 4 - 2. C**). Conduction velocities in the RA were significantly greater in the nifedipine group versus the cilnidipine dogs (**Figure 4 - 2. D**).

Autonomic nervous system function

Differences between the effects of nifedipine and cilnidipine were expected to be related to altered autonomic tone associated with NTCC-block. We used HRV as an index of cardiac autonomic function in placebo-, nifedipine-, and cilnidipine-treated AF dogs (**Figure 4 - 3; Online Figure 4 - 1**). AVNN was decreased after 1-week AF in all groups. HRV, as assessed by pNN50, and rMSSD was also significantly reduced by AF-induced remodeling. This effect was unaltered by nifedipine, but was attenuated

by cilnidipine, which eliminated the differences between baseline and AF-conditions. We also found that plasma norepinephrine concentration, an indicator of sympathetic nerve activity, was significantly increased by 1-week AF with or without nifedipine, but significantly reduced by cilnidipine treatment (**Figure 4 - 4**).

Expression of ion channel- and Ca²⁺ handling-related genes

Online Figures 4 - 2. A and 2. B show the expression profiles of a range of ion channel and transporter genes, including K⁺-channel subunit, N- and L-type Ca²⁺-channel subunit, and Ca²⁺-handling genes. *KCNA4*, *CACNA1C*, and *RYR2* were downregulated after 1 week of AF, whether in the absence or presence of cilnidipine or nifedipine. There were no statistically-significant differences in the expression levels of *KCND3*, *KCNJ2*, *CACNA1B*, and *SERCA2A* among groups. *NCX1* values were similar for all the AF groups, with a statistically significant decrease versus Sham for AF+nifedipine.

Extracellular matrix (ECM) gene expression in the atrium

Online Figure 4 - 2. C shows the RA expression profiles of the extracellular-matrix (ECM) genes encoding collagens, fibronectin and fibrillin (*COL1A1*, *COL1A2*, *COL3A1*, *FNI*, and *FBNI* respectively). The expression of all ECM genes was significantly increased versus Sham for nifedipine-treated AF-dogs, as was *FNI* in the placebo group. Cilnidipine treatment significantly attenuated upregulation of collagen genes compared to the nifedipine-treated AF-group.

Effects of NTCC-blockade on remodeling caused by 21 days of AF

Our 7-day study revealed attenuation of short-term AF-related remodeling by NTCC-blockade. In a previous study(11), we showed that 1-week AF increases ECM-gene mRNA expression without increasing collagen content or causing fibrosis. A possible explanation for the lack of fibrosis despite collagen upregulation is that insufficient time had passed for collagen-protein accumulation. It was therefore of interest to assess whether cilnidipine can prevent the eventual development of AF-related fibrosis, an important determinant of clinical outcome, with longer-duration AF. We addressed this issue in a follow-up study comparing 21-day Sham dogs with AF-dogs treated with placebo or cilnidipine.

Electrophysiologic and hemodynamic changes

Placebo- and cilnidipine-treated dogs subjected to 21-day AF showed significantly increased vulnerability to AF-induction (**Figure 4 - 5. A**). Although vulnerability was significantly less in the cilnidipine-group compared to the placebo-group, it remained significantly increased versus Sham. Placebo-treated AF-dogs showed significantly increased AF-duration (**Figure 4 - 5. B**). In the cilnidipine-treated AF-group, mean AF-duration was almost 60% shorter than in the placebo group, and not significantly different from Sham. Placebo-treated dogs had significantly reduced ERP (**Figure 4 - 5. C and 5. D**) and this effect was significantly attenuated by cilnidipine. Optically-mapped LA conduction velocities were decreased in the placebo-treated AF-group (by 42%); this effect was significantly attenuated (to a 17% decrease) in the cilnidipine-group (**Figure 4 - 5. E**).

Left-ventricular ejection fraction was reduced at end-study by an absolute value of about 15% in AF-dogs (**Online Figure 4 - 3**), to an equivalent extent in both placebo- and cilnidipine-treated groups.

Expression of genes potentially involved in conduction changes

We then examined the expression of genes that could be involved in the conduction-slowing caused by AF. Placebo-treated AF-dogs showed significantly decreased *SCN5A* (Na⁺-channel gene) mRNA-expression, an effect fully prevented by cilnidipine (**Figure 4 - 6. A**). Connexin-43 (*GJA1*) mRNA was downregulated in the placebo AF-group, an effect also fully prevented by cilnidipine. Connexin-40 (*GJA5*) expression was not changed (**Figure 4 - 4. B**). Collagen-gene expression was significantly enhanced in AF-dogs for both subtypes 1 and 3 (**Figure 4 - 6. C**), an effect that was significantly attenuated by cilnidipine. Changes in connexin-protein expression (**Figure 4 - 7**) paralleled those in mRNA.

Effects on fibrous-tissue content

Examples of Masson-trichrome stained atrial tissue sections are shown in **Figure 4 - 8. A-C**. Fibrous-tissue content was increased in the AF-samples. **Figure 4 - 8. D** shows overall data and quantitatively confirms the fibrosis associated with AF, with a significant, >6-fold increase in atrial fibrous-tissue content in AF-dogs that showed statistically significant attenuation under cilnidipine therapy.

Discussion

Main findings

We have found that the N-/L-type Ca^{2+} channel blocker cilnidipine inhibits the electrophysiological, autonomic and structural consequences of AF-related remodeling and the AF-associated increase in AF-vulnerability and AF-duration ; in contrast, the LTCC-selective blocker nifedipine had no protective effects. The protective effects of cilnidipine on the remodeling consequences of short-term AF are principally manifested by reductions in AF-induced ERP-abbreviation. With longer-term AF, cilnidipine also attenuates conduction-velocity reductions, protecting against AF-induced fibrosis and downregulation of sodium-channel and connexin subunits. Cilnidipine's anti-remodeling properties were associated with suppression of the changes in autonomic tone caused by AF.

NTCCs and sympathetic nerve activity

The physiological functions of NTCCs have been studied using ω -conotoxin GVIA, a selective NTCC blocker, and by generating mice lacking *CACNA1B*, which encodes the $\alpha 1B$ subunit of NTCCs (12). NTCCs predominantly regulate the release of norepinephrine at sympathetic nerve terminals (13, 14). In the present study, pharmacological blockade of NTCCs by cilnidipine repressed sympathetic activity, as indicated by a reduction in plasma norepinephrine concentrations in AF dogs.

Results obtained with genetically-engineered NTCC-deficient mice provide direct evidence for sympathetic nervous system regulation by NTCCs, indicating that the role of NTCCs cannot be filled by other voltage-dependent Ca^{2+} -channels (12). In contrast, parasympathetic nervous activity in NTCC-mutant mice was nearly identical

to that of wild-type mice (12), suggesting that channel-types other than NTCCs play a role in controlling parasympathetic activity. In the present study, AF dogs showed significantly altered autonomic balance as reflected by changes in HRV; cilnidipine-treatment prevented this change.

Cilnidipine pharmacology

Cilnidipine is classified as a ‘fourth-generation’ Ca²⁺-channel blocker(6). Cilnidipine’s dissociation constant (Kd) for NTCCs is at least an order of magnitude smaller than that of 9 other Ca²⁺-channel blockers (15). Along with a larger Kd for LTCC blockade than the other agents, this difference provides cilnidipine with ≥20-fold selectivity for NTCCs over LTCCs, versus 2.3 to 800 fold selectivity for LTCCs over NTCCs for the other agents (15).

Studies in patients and well-controlled animal models suggest that the drug has a variety of unique actions that are mediated by NTCC blockade. These include the suppression of sympathetic nervous overactivity (16, 17), protection against the consequences of adverse ventricular remodeling (14, 18, 19), renal protection (20, 21), and improvement of insulin resistance (22). In addition, cilnidipine prevents the increase in plasma angiotensin-II levels that occur in spontaneously hypertensive rats (23) and in a canine model of a chronic atrioventricular block that exhibits ventricular electrical remodeling (24). These actions contrast with those of the LTCC blocker amlodipine, which increases plasma angiotensin II levels (23). Cilnidipine also directly suppresses aldosterone secretion from adrenocortical cells (25). These results suggest that NTCCs are important regulators of renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) activity.

Accumulating evidence points to a significant role of the RAAS in the development of atrial fibrosis, thereby contributing to AF development (26). Interventions that inhibit the RAAS prevent promotion of atrial fibrosis and fibrillation in animal models independently of hemodynamic actions (27, 28). RAAS inhibition by cilnidipine's NTCC blocking action might have contributed to attenuating AF-associated atrial ECM-gene activation (**Online Figure 2C, Figure 6C**) and left atrial fibrosis (**Figure 8**). In contrast to cilnidipine, treatment with an LTCC blocker without significant NTCC inhibiting activity (nifedipine) during short-term AF significantly increased plasma norepinephrine concentrations and enhanced collagen-expression versus short-term AF alone.

Autonomic remodeling in AF

There is extensive evidence that autonomic nervous system function is a key determinant of AF. Jayachandran *et al.* first reported that electrically-maintained AF is associated with heterogeneous changes in atrial innervation (29). These changes were subsequently related to regional sympathetic hyperinnervation and nerve sprouting (30). Consistent with these observations, cardiac ganglionated-plexus ablation attenuates the enhanced atrial vulnerability resulting from 1 week of atrial-tachycardia remodeling in dogs (31), although ganglionated plexus ablation affects both sympathetic and parasympathetic nerves while N-type Ca²⁺-channels appear to regulate only sympathetic nerve activity (12). The present study adds to this literature by showing that a drug that attenuates the autonomic dysregulation associated with AF-related remodeling by reducing sympathetic outflow suppresses the concomitant electrophysiological, structural and AF-vulnerability changes.

Potential implications

To our knowledge, our study is the first to evaluate the effects of a drug with NTCC-blocking properties on arrhythmogenic atrial remodeling. Our results show that cilnidipine suppresses a variety of consequences of AF-related remodeling, including changes in autonomic function, abbreviations in atrial refractoriness, increases in AF-vulnerability and atrial fibrosis. Cilnidipine is presently used clinically in East Asia, India, and some European countries to treat hypertension and has limited adverse effects. It may thus be an interesting adjunct in the treatment of AF, particularly in patients (like hypertensives) with clinical indications for the drug. Since hypertension is the condition most commonly associated with AF, this consideration may apply to a substantial number of individuals.

Our observation of the suppression of both AF-induced atrial fibrosis and changes in connexin expression by cilnidipine raises the interesting possibility that autonomic modulation may influence not only AF-related electrical remodeling, but also structural remodeling. Kusunose *et al.* showed previously that vagal-nerve stimulation suppresses LA-fibrosis resulting from 2-week ventricular-tachypacing induced cardiomyopathy (32). Further work to explore the translational importance of these observations might be of value. Since cilnidipine is a clinically available and well-tolerated drug, randomized controlled trials of this agent in the prevention of AF-related remodeling and/or AF recurrence might be of interest. Furthermore, cilnidipine may prove to be a useful lead agent for the development of new upstream drug therapy approaches to AF-management.

Potential limitations

Although we observed attenuating effects of cilnidipine on AF-induced ERP-shortening, the drug did not affect AF-related downregulation of L-type Ca^{2+} -channel subunits (encoded by *CACNA1C*), believed to be a central contributor to atrial tachycardia-induced electrical remodeling (33). Rate-related intracellular Ca^{2+} -loading, which activates Ca^{2+} /calmodulin/calcineurin signaling, is a primary signal for *CACNA1C*-downregulation. Since *CACNA1C*-subunit downregulation was not affected by cilnidipine, the ERP-changes that we saw with the drug likely reflect an attenuation of AF-related autonomic remodeling rather than altered ion-current remodeling. Ganglionated-plexus ablation has been previously reported to similarly prolong atrial ERP in atrial-tachycardia remodeled dogs (31). However, we have not investigated the potential effects of NTCC blockade on other remodeling-affected determinants, like other subunits contributing to I_{K1} , I_{KACH} , I_{CaL} etc, as well as parasympathetic innervation.

No conduction-velocity changes were found with 1 week of AF. This finding is consistent with previous work showing that 7-day atrial tachycardia-remodeling does not change atrial conduction (11, 34). We previously reported that atrial fibrous-tissue content is unchanged after 7 days of electrically-maintained AF in dogs, despite ECM-gene upregulation and evidence of fibroblast activation (11). It is likely that time is required for the ECM remodeling that produces atrial fibrosis ; thus, while the genes involved are activated after 7 days of AF, the accumulation of significant collagen deposits requires at least 2 additional weeks as shown in the present study.

Nifedipine was not evaluated in the longer-term AF study. We observed no signal for efficacy of nifedipine in preventing any component of AF-associated

remodeling at 7 days, and therefore considered it inappropriate to include additional nifedipine-treated animals in the longer-term study.

Conclusions

Here, we studied for the first time the effects of a commercially available drug with NTCC blocking action on AF-related remodeling. The results show that NTCC inhibition is associated with a variety of potentially beneficial effects, including suppression of electrophysiological remodeling, autonomic dysregulation, structural remodeling and arrhythmia promotion. These observations provide new insights into the mechanisms of AF-related atrial remodeling and have potential therapeutic implications.

Acknowledgements

The authors thank Jennifer Bacchi for secretarial help with the manuscript, and Nathalie L'Heureux and Chantal St-Cyr for technical assistance. They also thank Dr. Yoshihiro Sobue for helpful advice regarding EPS performance in the dogs.

Funding sources

The Canadian Institutes of Health Research (Foundation Grant 148401) and the Heart and Stroke Foundation of Canada (G-16-00012708) to SN.

Conflict of Interest

JBG received an unrestricted grant in aid of fellowship support from Abbott. The other authors have no potential conflicts to disclose.

References

1. Nattel S. New ideas about atrial fibrillation 50 years on. *Nature* 2002;415:219–26.
2. Brand FN, Abbott RD, Kannel WB, Wolf PA. Characteristics and prognosis of lone atrial fibrillation. 30-year follow-up in the Framingham Study. *JAMA* 1985;254:3449–53.
3. Catterall WA, Perez-Reyes E, Snutch TP, Striessnig J. International Union of Pharmacology. XLVIII. Nomenclature and structure-function relationships of voltage-gated calcium channels. *Pharmacol. Rev.* 2005;57:411–25.
4. Kuwahara K, Kimura T. The organ-protective effect of N-type Ca(2+) channel blockade. *Pharmacol. Ther.* 2015;151:1–7.
5. Mori Y, Nishida M, Shimizu S, et al. Ca(2+) channel alpha(1B) subunit (Ca(V) 2.2) knockout mouse reveals a predominant role of N-type channels in the sympathetic regulation of the circulatory system. *Trends Cardiovasc. Med.* 2002;12:270–5.
6. Takahara A. Cilnidipine: a new generation Ca channel blocker with inhibitory action on sympathetic neurotransmitter release. *Cardiovasc. Ther.* 2009;27:124–139.
7. Molderings GJ, Likungu J, Göthert M. N-Type calcium channels control sympathetic neurotransmission in human heart atrium. *Circulation* 2000;101:403–7.
8. Ino M, Yoshinaga T, Wakamori M, et al. Functional disorders of the sympathetic nervous system in mice lacking the alpha 1B subunit (Cav 2.2) of N-type calcium channels. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2001;98:5323–8.
9. Chen P-S, Chen LS, Fishbein MC, Lin S-F, Nattel S. Role of the autonomic nervous system in atrial fibrillation: pathophysiology and therapy. *Circ. Res.* 2014;114:1500–1515.
10. Sharifov OF, Fedorov V V, Beloshapko GG, Glukhov A V, Yushmanova A V,

Rosenshtraukh L V. Roles of adrenergic and cholinergic stimulation in spontaneous atrial fibrillation in dogs. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2004;43:483–90.

11. Harada M, Luo X, Qi XY, et al. Transient receptor potential canonical-3 channel-dependent fibroblast regulation in atrial fibrillation. *Circulation* 2012;126:2051–2064.

12. Ino M, Yoshinaga T, Wakamori M, et al. Functional disorders of the sympathetic nervous system in mice lacking the alpha 1B subunit (Cav 2.2) of N-type calcium channels. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2001;98:5323–5328.

13. Hirning LD, Fox AP, McCleskey EW, et al. Dominant role of N-type Ca²⁺ channels in evoked release of norepinephrine from sympathetic neurons. *Science* 1988;239:57–61.

14. Yamada Y, Kinoshita H, Kuwahara K, et al. Inhibition of N-type Ca²⁺ channels ameliorates an imbalance in cardiac autonomic nerve activity and prevents lethal arrhythmias in mice with heart failure. *Cardiovasc. Res.* 2014;104:183–193.

15. Uneyama H, Uchida H, Konda T, Yoshimoto R, Akaike N. Selectivity of dihydropyridines for cardiac L-type and sympathetic N-type Ca²⁺ channels. *Eur. J. Pharmacol.* 1999;373:93–100.

16. Takahara A, Koganei H, Takeda T, Iwata S. Antisymphathetic and hemodynamic property of a dual L/N-type Ca(2+) channel blocker cilnidipine in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2002;434:43–47.

17. Nagahama S, Norimatsu T, Maki T, Yasuda M, Tanaka S. The effect of combination therapy with an L/N-Type Ca(2+) channel blocker, cilnidipine, and an angiotensin II receptor blocker on the blood pressure and heart rate in Japanese hypertensive patients: an observational study conducted in Japan. *Hypertens. Res. Off. J. Jpn. Soc. Hypertens.* 2007;30:815–822.

18. Varagic J, Susic D, Frohlich ED. Cilnidipine improves spontaneously hypertensive

rat coronary hemodynamics without altering cardiovascular mass and collagen. *J. Hypertens.* 2002;20:317–322.

19. Takemori K, Ishida H, Dote K, Yamamoto K, Ito H. Prophylactic effects of an N- and L-type Ca²⁺ antagonist, cilnidipine, against cardiac hypertrophy and dysfunction in stroke-prone, spontaneously hypertensive rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2005;83:785–790.

20. Fujita T, Ando K, Nishimura H, et al. Antiproteinuric effect of the calcium channel blocker cilnidipine added to renin-angiotensin inhibition in hypertensive patients with chronic renal disease. *Kidney Int.* 2007;72:1543–1549.

21. Kojima S, Shida M, Yokoyama H. Comparison between cilnidipine and amlodipine besilate with respect to proteinuria in hypertensive patients with renal diseases. *Hypertens. Res. Off. J. Jpn. Soc. Hypertens.* 2004;27:379–385.

22. Takeda S, Ueshiba H, Hattori Y, Irie M. Cilnidipine, the N- and L-type calcium channel antagonist, reduced on 24-h urinary catecholamines and C-peptide in hypertensive non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 1999;44:197–205.

23. Konda T, Enomoto A, Aritomi S, et al. Different effects of L/N-type and L-type calcium channel blockers on the renin-angiotensin-aldosterone system in SHR/Izm. *Am. J. Nephrol.* 2009;30:155–161.

24. Takahara A, Nakamura Y, Wagatsuma H, et al. Long-term blockade of L/N-type Ca(2+) channels by cilnidipine ameliorates repolarization abnormality of the canine hypertrophied heart. *Br. J. Pharmacol.* 2009;158:1366–1374.

25. Aritomi S, Wagatsuma H, Numata T, et al. Expression of N-type calcium channels in human adrenocortical cells and their contribution to corticosteroid synthesis. *Hypertens. Res. Off. J. Jpn. Soc. Hypertens.* 2011;34:193–201.

26. Van Wagoner DR, Nattel S. Insights into mechanisms linking cardiac hypertrophy and atrial fibrosis: evidence for a role of histone deacetylase in atrial fibrillation pathophysiology and therapy. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2008;45:707–708.
27. Shi Y, Li D, Tardif J-C, Nattel S. Enalapril effects on atrial remodeling and atrial fibrillation in experimental congestive heart failure. *Cardiovasc. Res.* 2002;54:456–461.
28. Shroff SC, Ryu K, Martovitz NL, Hoit BD, Stambler BS. Selective aldosterone blockade suppresses atrial tachyarrhythmias in heart failure. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2006;17:534–541.
29. Jayachandran JV, Sih HJ, Winkle W, Zipes DP, Hutchins GD, Olgin JE. Atrial fibrillation produced by prolonged rapid atrial pacing is associated with heterogeneous changes in atrial sympathetic innervation. *Circulation* 2000;101:1185–1191.
30. Chang CM, Wu TJ, Zhou S, et al. Nerve sprouting and sympathetic hyperinnervation in a canine model of atrial fibrillation produced by prolonged right atrial pacing. *Circulation* 2001;103:22–25.
31. Nishida K, Maguy A, Sakabe M, Comtois P, Inoue H, Nattel S. The role of pulmonary veins vs. autonomic ganglia in different experimental substrates of canine atrial fibrillation. *Cardiovasc. Res.* 2011;89:825–833.
32. Kusunose K, Zhang Y, Mazgalev TN, Van Wagoner DR, Thomas JD, Popović ZB. Impact of vagal nerve stimulation on left atrial structure and function in a canine high-rate pacing model. *Circ. Heart Fail.* 2014;7:320–326.
33. Qi XY, Yeh Y-H, Xiao L, et al. Cellular signaling underlying atrial tachycardia remodeling of L-type calcium current. *Circ. Res.* 2008;103:845–854.
34. Li D, Fareh S, Leung TK, Nattel S. Promotion of atrial fibrillation by heart failure in dogs: atrial remodeling of a different sort. *Circulation* 1999;100:87–95.

Table

Table 4 - 1. Characteristics of dogs in various acute-AF groups

	Sham (n=5)	Placebo (n=6)	Nifedipine (n=5)	Cilnidipine (n=7)
Body weight (kg)	30.4±1.5	31.5±1.7	32.6±3.3	29.1±1.0
Systolic BP (mmHg)	144±9	120±7	120±6	119±10
Diastolic BP (mmHg)	79±3	80±5	71±4	75±6
RAP (mmHg)	3.0±0.7	8.0±0.7*	8.1±1.8*	7.8±0.8*
LAP (mmHg)	2.8±0.3	9.8±0.4*	10.4±1.7*	11.0±1.2*
LVEDP (mmHg)	6.5±0.3	12.2±0.7*	11.7±2.0*	11.2±1.6*

Characteristics of dogs in various acute-AF groups * P < 0.05 vs Sham.

Figures

Figure 4 - 1. Schematic of groups and interventions

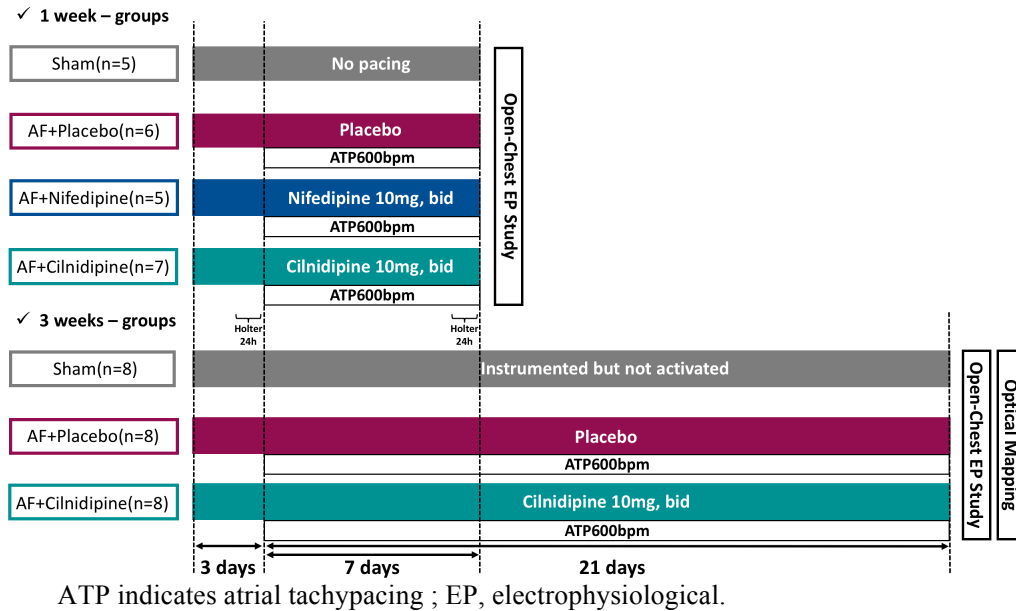
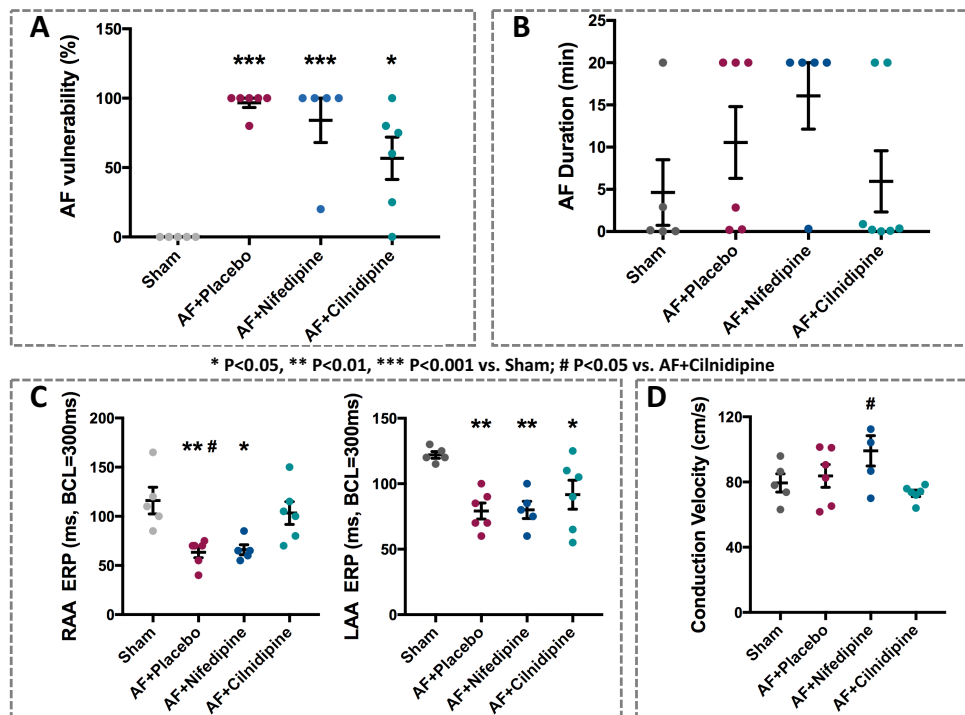


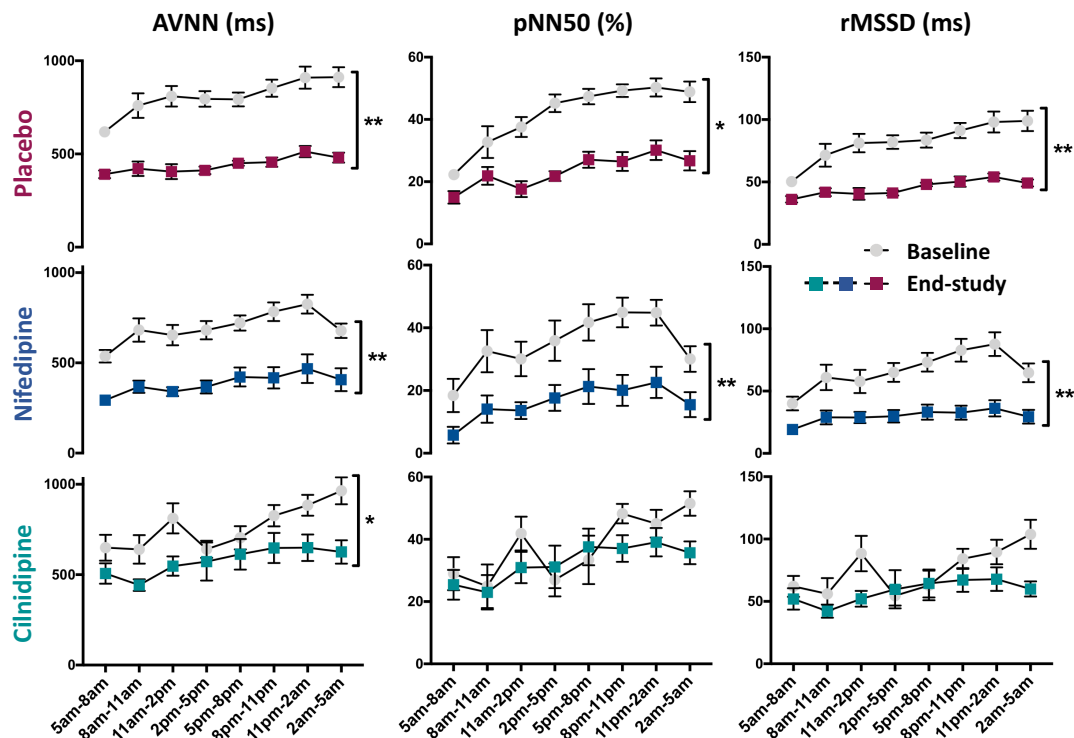
Figure 4 - 2. Effects of cilnidipine on AF features after 1-week AF



Cilnidipine significantly attenuated right atrial appendage (RAA) ERP changes caused by AF. LAA indicates left atrial appendage.

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 versus Shams, by 1-way ANOVA with Tukey test. #p<0.05 versus AF+cilnidipine., by 1-way ANOVA with Tukey test.

Figure 4 - 3. The effect of cilnidipine on heart rate variability (HRV)

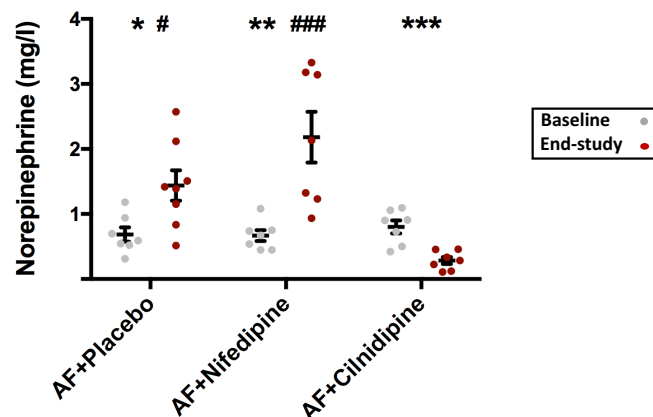


Cilnidipine attenuated AF-induced changes in these indices of autonomic tone (see also Online Figure 1).

Left, average of all NN intervals (AVNN). Middle, the proportion of the number of pairs of NNs that differ by more than 50 ms divided by total number of NNs (pNN50). Right, root mean square of the successive differences (rMSSD). The X-axis labels represent 3-hour blocks at the times of the day indicated.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ versus Baseline by 2-way ANOVA.

Figure 4 - 4. The effect of cilnidipine on plasma norepinephrine concentration

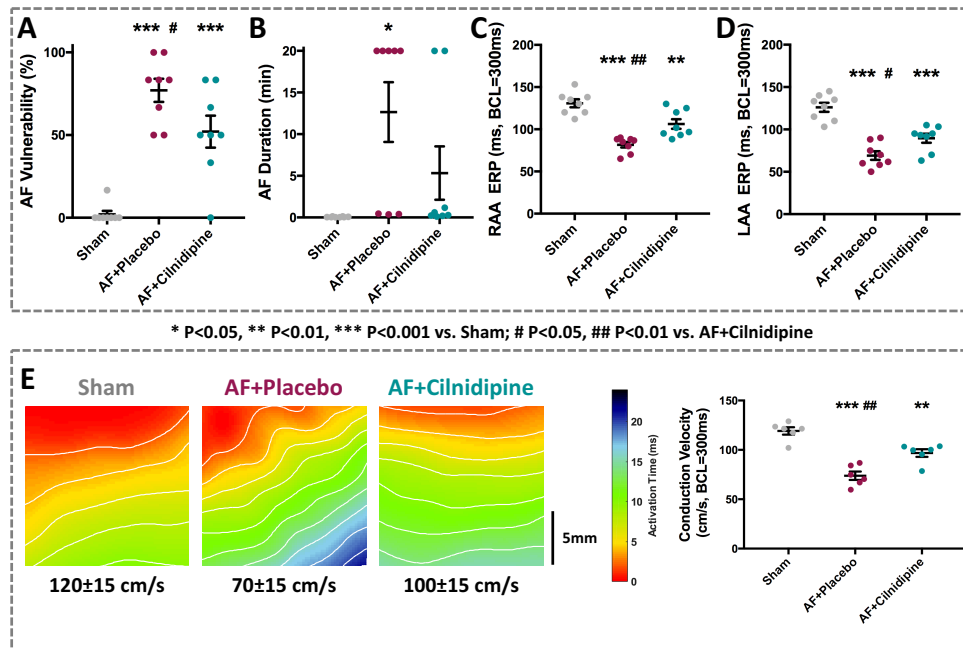


In contrast to AF alone or AF+nifedipine, both of which significantly increased norepinephrine plasma concentration, cilnidipine significantly reduced it in AF-dogs.

Blood samples were taken before and 7 days after AT-P onset.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ for End-study versus Baseline, by 1-way ANOVA with Tukey test. # $p < 0.05$, ### $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ versus End-study AF+cilnidipine, by 1-way ANOVA with Tukey test.

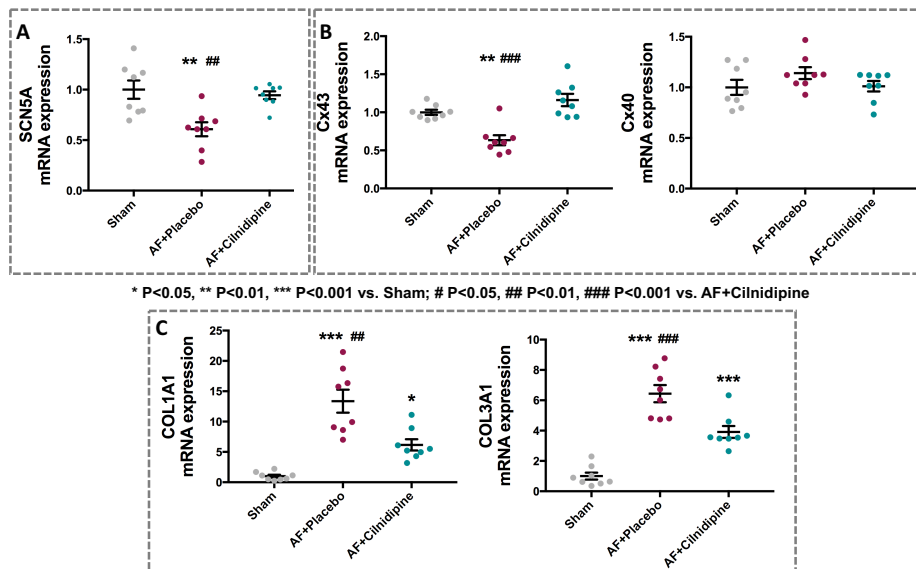
Figure 4 - 5. Effects of cilnidipine on AF substrate and conduction properties after 3-week AF



Cilnidipine significantly attenuated AF-induced changes in AF-vulnerability, atrial ERP and conduction velocity.

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 versus Sham, by 1-way ANOVA with Tukey test. #p<0.05, ##p<0.01 versus AF+cilnidipine, by 1-way ANOVA with Tukey test.

Figure 4 - 6. The effect of cilnidipine on mRNA expression of various genes related to AF-induced conduction changes

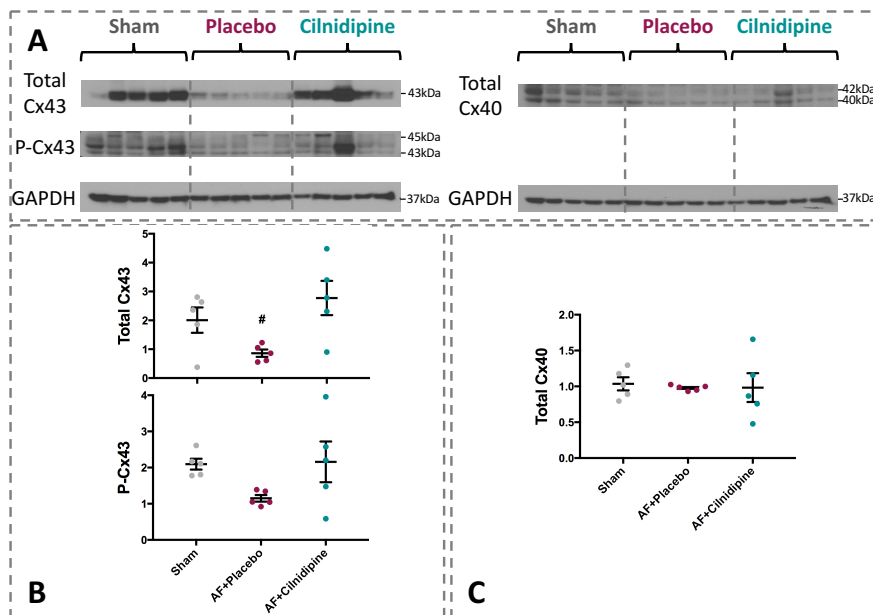


AF-induced gene dysregulation was significantly attenuated by cilnidipine.

A) sodium-channel gene SCN5A, B) connexin genes GJA1 and GJA5, C) collagen genes Col1A1 and Col3A1

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 versus Sham, by 1-way ANOVA with Tukey test.
p<0.05, ## p<0.01, ### p<0.001 versus AF+cilnidipine. by 1-way ANOVA with Tukey test.

Figure 4 - 7. The effects of cilnidipine on connexin protein expression

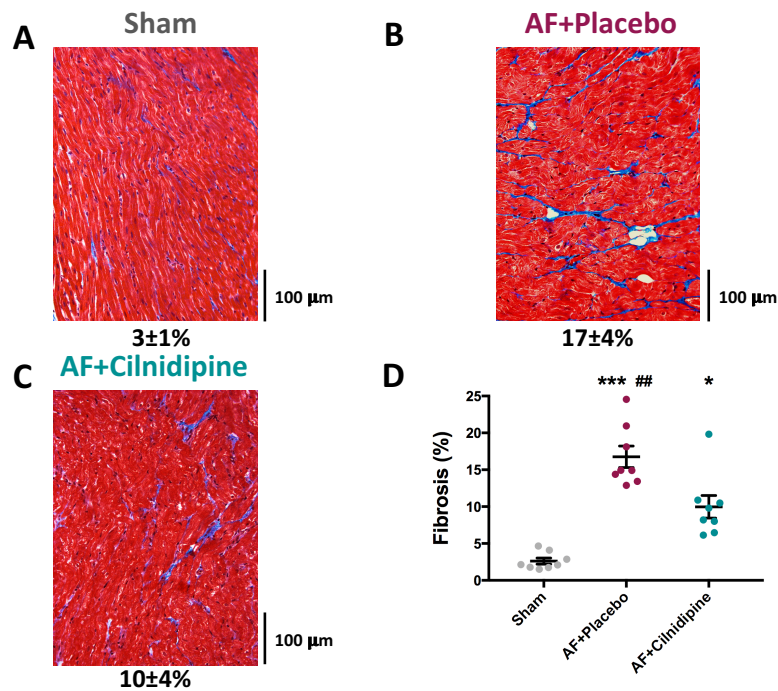


Cilnidipine significantly increased total Cx43 expression in AF-dogs versus placebo.

A/ Examples of original Western blots. B/ Mean data for total and phosphorylated connexin-43 (Cx43). C/Connexin-40 (Cx40)

p<0.05 versus AF+cilnidipine. by 1-way ANOVA with Tukey test.

Figure 4 - 8. The effects of cilnidipine on atrial fibrosis

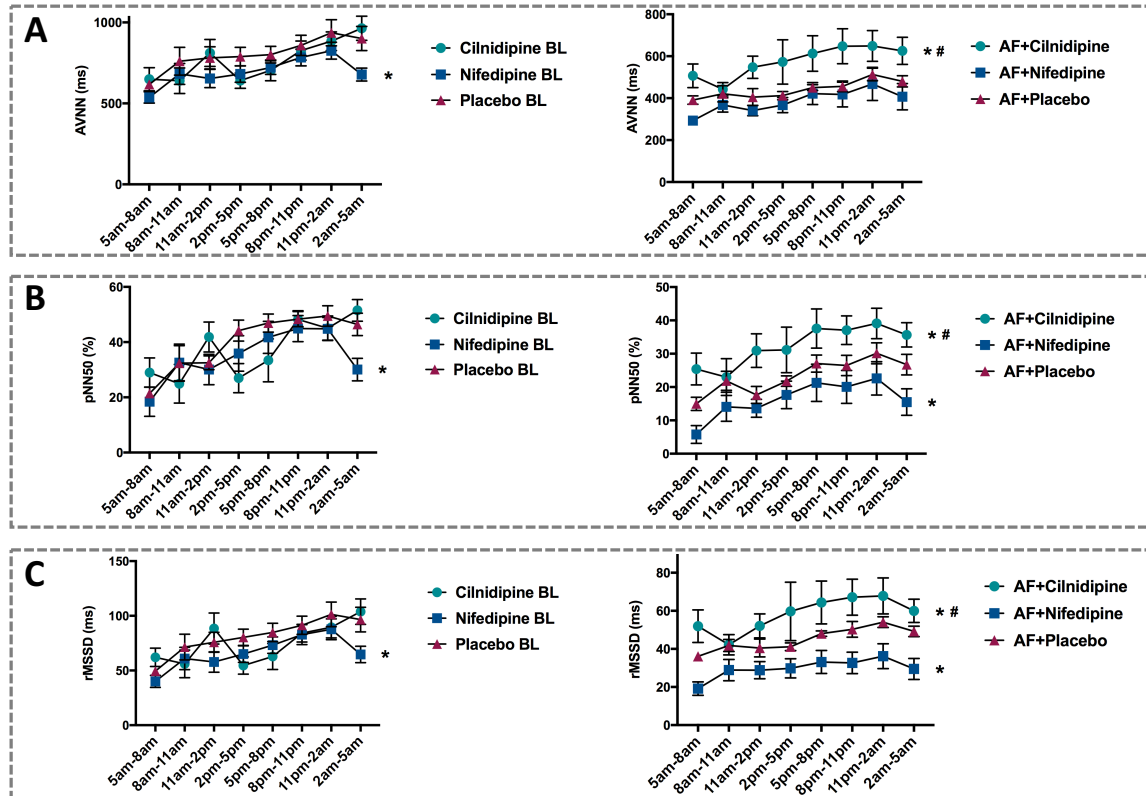


Cilnidipine significantly attenuated AF-induced fibrosis.

A-C) Examples of original photomicrographs. D) Mean data.

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 versus Sham, by 1-way ANOVA with Tukey test. # p<0.05, ## p<0.01 versus AF+cilnidipine, by 1-way ANOVA with Tukey test.

Online Figure 4 - 1. The effect of cilnidipine on heart rate variability (HRV) before and after 7-day AF

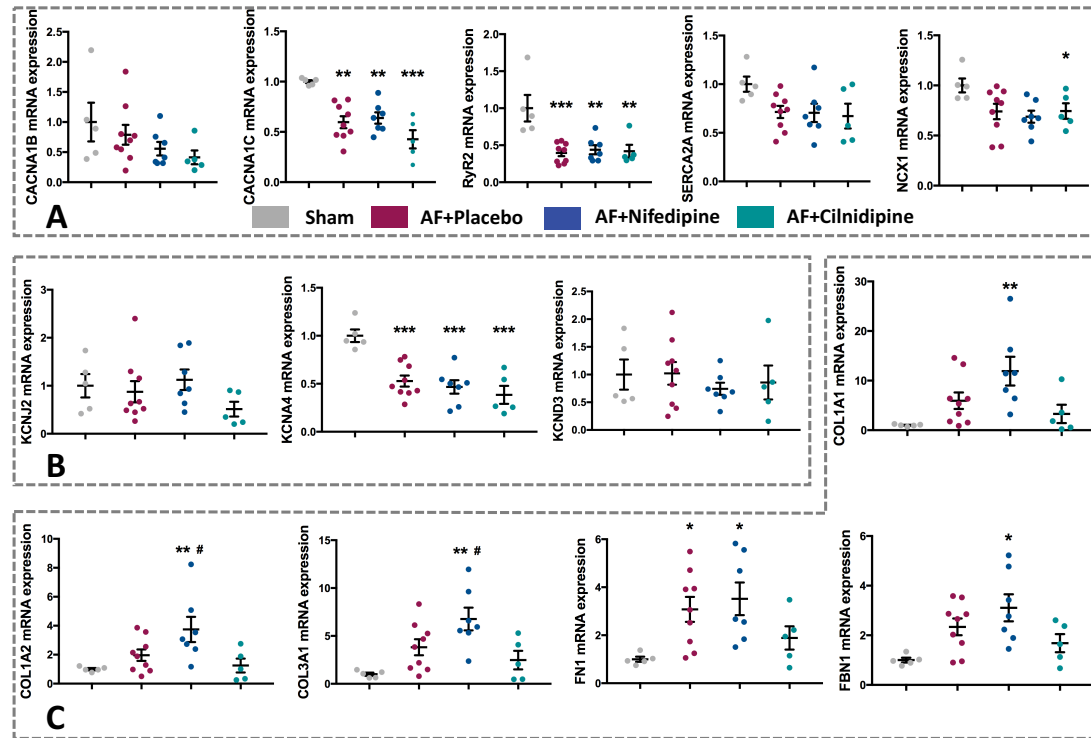


A) The average of all NN intervals (AVNN). B) The proportion of the number of pairs of NNs that differ by more than 50 ms divided by total number of NNs (pNN50). C) Root mean square of the successive differences (rMSSD).

The X-axis labels represent 3-hour blocks at the times of the day indicated. (n=5, 6, 5, 7 dogs for Sham, AF+Placebo, AF+Nifedipine, and AF+Cilnidipine)

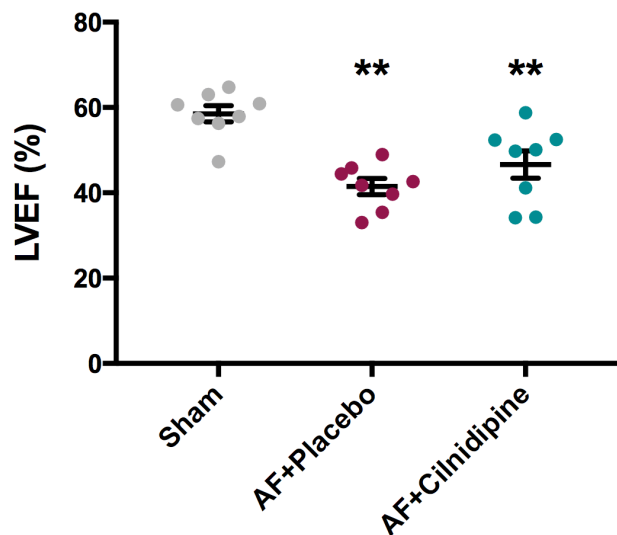
* P<0.05 versus placebo and # P<0.05 versus nifedipine by 2-way ANOVA with Tukey test.

Online Figure 4 - 2. The effect of cilnidipine on expression of ion channel subunit and Ca²⁺-handling protein and ECM genes after 7 days of AF



*P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001 versus sham and # P<0.05 versus AF+cilnidipine by 1-way ANOVA with Tukey test. (n=5, 9, 5, 7 dogs for Sham, AF+Placebo, AF+Nifedipine, and AF+Cilnidipine)

Online Figure 4 - 3. The assessment of left-ventricular ejection fraction after 21 days of AF



LVEF was reduced at end-study by an absolute value of about 15% in AF-dogs, to an equivalent extent in both placebo- and cilnidipine-treated groups.

n=8 dogs/group

** P< 0.01 versus sham by 1-way ANOVA with Tukey test.

CHAPITRE 5 - Discussion générale

1. Résumé des principales découvertes de l'étude

Dans le cadre de la première étude, nous avons caractérisé les mécanismes mis en jeu dans l'interrelation entre la FA et le FLA. En effet, bien que la littérature détaille rigoureusement l'interrelation de la FA et du FLA au point de vue épidémiologique, l'aspect mécanistique de la forte prévalence de la FA après la prise en charge clinique du FLA n'est pas précisément connu.

Au niveau méthodologique, notre étude est la première à caractériser le circuit de macro-réentrée atrial droit mis en jeu dans le modèle chronique de FLA par atriectomie droite en Y. Contrairement aux descriptions antérieures, les cartographies d'activation endocavitaires permettent d'identifier deux circuits de macro-réentrée : d'une part une macro-réentrée autour de l'anneau valvulaire tricuspide, d'autre part une macro-réentrée en sens inverse autour de l'atriectomie en Y. Logiquement, les mécanismes électrophysiologiques mis en jeu dans le modèle de l'étude sont comparables au FLA en huit rencontré en post-chirurgie correctrice de cardiopathie congénitale.

Nous avons caractérisé le remodelage atrial consécutif au FLA chronique. Un remodelage électrique atrial est présent après trois semaines de FLA avec une diminution des PRE, une augmentation de la vulnérabilité aux arythmies atriales et de la durée de celles-ci. L'ablation du substrat de FLA par ligature de l'ICT ne permet pas de diminuer l'inductibilité aux arythmies mais diminue fortement la durée de celles-ci. D'un autre côté, le FLA chronique n'entraîne pas de diminution des vitesses de conduction au niveau de l'OG, contrairement à la FA, avec ou sans substrat anatomique de FLA. Ces résultats sont soutenus par l'analyse des différents déterminants électrophysiologiques de la conduction intra-atriale : aucune anomalie n'a été

objectivée dans le groupe FLA chronique, que ce soit au niveau de l'expression des protéines composant le canal sodique, l'expression des connexines 40 et 43 constitutives des jonctions communicantes et l'expression du collagène et de la fibrose tissulaire.

A contrario, la FA chronique sans substrat anatomique de FLA, est responsable d'un remodelage atrial électrique et structurel, avec notamment une augmentation du processus fibrotique.

Enfin, le remodelage consécutif à la FA chronique en présence d'un substrat anatomique de FLA est original à plus d'un titre : en présence du substrat de FLA, les arythmies induites lors de l'étude de la vulnérabilité atriale sont majoritairement de la FA et de façon minoritaire du FLA ; résultat inverse du groupe avec un FLA chronique après trois semaines de suivi. De plus, lorsqu'un FLA stable est induit, celui-ci présente des caractéristiques différentes du FLA induit en cas de FLA chronique : les durées de cycle sont plus faibles et plus variables correspondant à une arythmie mixte entre le FLA et la FA.

L'objectif de la seconde étude était de caractériser l'effet propre de l'arythmie atriale et de la réponse ventriculaire rapide sur le remodelage atrial en cas de FA. En effet, le remodelage atrial consécutif à la FA a été précisément étudié, que ce soit au niveau du remodelage électrique puis au niveau structurel, mais la caractérisation des déterminants du remodelage en cas de FA n'a jamais été réalisée.

L'arythmie atriale secondaire à la FA avec contrôle de la fréquence ventriculaire par bloc atrio-ventriculaire est responsable d'un remodelage électrique avec diminution des PRE et de la vulnérabilité aux arythmies au niveau de l'OG. Il existe également un remodelage structurel objectivé par une diminution des vitesses de conduction atriales

gauches, une diminution de l'expression des protéines constituant le canal sodique et une augmentation modeste de la fibrose tissulaire, sans mise en évidence d'une augmentation de l'expression du collagène et une modification de l'expression des connexines composant les jonctions communicantes. Au niveau hémodynamique, une dysfonction atriale est caractérisée avec une augmentation du volume de l'OG et une diminution de sa fraction de vidange. Logiquement, aucune dysfonction ventriculaire n'est objectivée.

La FA associée à une réponse ventriculaire rapide et irrégulière induit un remodelage atrial électrique à type de diminution des PRE et une augmentation de la vulnérabilité aux arythmies et de la durée de FA. La diminution franche des vitesses de conduction dans l'OG était associée à une diminution de l'expression des canaux sodiques et des connexines 43 et une augmentation du processus fibrotique *via* une augmentation de l'expression du collagène atrial et de la fibrose tissulaire. La FA associée à une réponse ventriculaire rapide induit une diminution de la fraction de vidange de l'OG et une dégradation modérée de la FEVG.

La fréquence ventriculaire à 160 bpm, fréquence physiologique de réponse ventriculaire à la FA chez le chien, est responsable d'une augmentation de la vulnérabilité atriale aux arythmies et d'une diminution des vitesses de conduction secondaires à la diminution d'expression des protéines composant le canal sodique et une augmentation modérée de la fibrose tissulaire. La réponse ventriculaire rapide reproduisant la réponse ventriculaire en cas de FA induit une dysfonction ventriculaire gauche modérée. Le remodelage atrial induit par la réponse ventriculaire rapide est nettement différent de celui induit par une cardiomyopathie rythmique. En effet, la cardiopathie rythmique induit une dégradation sévère de la fonction ventriculaire gauche avec une augmentation de l'expression des facteurs natriurétiques atriaux, des

pressions télé-diastoliques ventriculaires gauches et une diminution importante de la FEVG. L'insuffisance cardiaque n'altère pas les PRE et la DPA au niveau de l'OG mais entraîne une augmentation constante et significative de la durée de la FA induite, une altération de l'expression des protéines constituant les canaux sodiques et une augmentation importante de l'expression de collagène et de la fibrose tissulaire.

Le troisième axe d'étude s'est porté sur la modulation d'un déterminant du remodelage atrial et l'évaluation de son efficacité, que ce soit au niveau du remodelage atrial électrique ou structurel. En effet, la caractérisation des effets du SNA sur le remodelage atrial en cas de FA a été progressivement réalisée ces dernières décennies. Cependant, la modulation de la décharge des neuromédiateurs orthosympathiques à l'étage atrial, par blocage des canaux calciques de type N et L à l'aide de la cilnidipine, n'a jamais été caractérisée dans une étude utilisant un modèle chronique de FA.

D'une part, la cilnidipine permet de réduire le remodelage électrique secondaire à la FA, que ce soit à court terme, c'est-à-dire après une semaine de suivi, ou à plus long terme après trois semaines de suivi. En effet, la cilnidipine permet de diminuer la vulnérabilité aux arythmies, la durée de FA mais aussi une atténuation de la diminution des PRE au niveau de l'OD et de l'OG. De plus, nous avons mis en évidence l'absence d'effet du blocage des courants calciques de type L, *via* l'administration de nifédipine, sur la réduction du remodelage atrial électrique secondaire à la FA après une semaine de suivi.

D'autre part, la cilnidipine semble limiter le remodelage structurel consécutif à la FA chronique, après trois semaines de suivi. Ainsi, la cilnidipine permet de limiter la diminution des vitesses de conduction intra-atriales gauches. Cette donnée peut être expliquée par l'efficacité de la cilnidipine sur les trois déterminants de la vitesse de

conduction atriale. Ainsi, le blocage des canaux calciques de type N permet une limitation de la diminution de l'expression des protéines constitutives des canaux sodiques et des connexines 43 participant à l'architecture des jonctions communicantes. Enfin, la cilnidipine permet de limiter l'augmentation de l'expression atriale du collagène 1A1, du collagène 3A1 et de limiter la présence tissulaire de fibrose.

L'action de la cilnidipine comme modulateur du SNA en cas de FA a été caractérisée dans notre étude. L'analyse du rythme journalier par Holter-ECG a permis de mettre en évidence l'effet de la cilnidipine *versus* placebo en cas de FA sur différents paramètres tels que le pNN50 et le rMSSD, mais pas sur l'AVNN. De plus, l'administration de cilnidipine en cas de FA a pour conséquence une diminution du taux sérique de noradrénaline, alors que le taux sérique de noradrénaline est significativement augmenté en cas de FA dans les groupes avec administration de placebo et de nifédipine.

En somme, la présente étude a permis de caractériser l'effet différentiel de différentes arythmies supra-ventriculaires, que ce soit le FLA, la FA avec ou sans contrôle du rythme ventriculaire, et des arythmies ventriculaires sur le remodelage atrial électrique et structurel. Les arythmies atriales et ventriculaires, quelles qu'elles soient, jouent donc un rôle significatif dans le remodelage atrial, intervenant comme un substrat électrique et structurel pour le développement et le maintien de la FA. De plus, nous avons mis en évidence que l'intervention pharmacologique modulant l'un des déterminants du remodelage atrial, le SNA, au cours d'un trouble du rythme supra-ventriculaire, la FA sans contrôle du rythme supra-ventriculaire, permet de limiter le développement du remodelage atrial. La modulation des déterminants du remodelage

atrial semble donc limiter l'effet pro-arythmique de celui-ci, jouant un rôle thérapeutique substantiel dans la prise en charge de la FA.

2. Cohérence externe et pertinence clinique

Le premier axe de recherche a permis de caractériser les mécanismes intervenant dans la survenue de FA au décours d'une tachycardie par macro-réentrée au niveau de l'OD. L'élément central, d'un point de vue physiopathologique, est la mise en place et le développement d'un remodelage atrial gauche consécutif à un FLA chronique. Ces données viennent confirmer les données électrophysiologiques de recherche fondamentale et clinique ayant par le passé caractérisé le remodelage atrial induit par le FLA.

Sparks *et al.* (189) ont étudié les caractéristiques remodelage électrique induit par le FLA paroxystique et chronique lors d'études électrophysiologiques endocavitaires réalisées dans un laboratoire d'électrophysiologie humaine. Le substrat électrique atrial a alors été caractérisé avec la mise en évidence d'une diminution des PRE de près de 15% au décours d'un FLA chronique, ainsi qu'une augmentation de la vulnérabilité à développer des épisodes de FA lors des manœuvres électrophysiologiques réalisées afin de déterminer les valeurs de PRE. Les auteurs ont étudié, contrairement à ce qui a été réalisé dans notre étude, le caractère réversible du remodelage atrial. Ainsi, le remodelage atrial électrique semble être réversible, avec une chronologie différente selon que le FLA évolue sur un mode paroxystique ou chronique. Cependant, il est important de noter que les auteurs se sont intéressés au remodelage électrique atrial droit sans caractériser le remodelage atrial gauche secondaire au FLA, composante indispensable dans la compréhension du lien entre le FLA droit et la FA.

Morton *et al.*(190) ont dans les suites caractérisé le remodelage atrial droit et gauche secondaire au FLA à l'aide d'un modèle chronique ovin de FLA utilisant le

modèle de substrat anatomique par atriectomie droite en Y. Ainsi, un remodelage bi-atrial semble survenir consécutivement au FLA chronique, marqué par une diminution des PRE intervenant après une courte période d'arythmie. Une diminution des vitesses de conduction droites a également été objectivée, sans qu'une étude du remodelage atrial structurel n'ait été effectué. Ces résultats divergent de la présente étude. En effet, nous n'avons objectivé aucune diminution des vitesses de conduction atriales gauches dans le groupe FLA chronique par rapport à la population Sham. Ces résultats sont confortés par l'absence de modifications au niveau des trois déterminants de la vitesse de conduction : les caractéristiques des canaux sodiques, des jonctions communicantes intercellulaires et du processus fibrotique. Notre étude est donc la première à objectiver l'absence de remodelage atrial structurel lors du FLA chronique, caractérisé notamment par l'absence de dilatation atriale gauche et l'absence de majoration du processus fibrotique. Notre étude permet de dichotomiser clairement le remodelage atrial secondaire à la FA et au FLA. De plus, le remodelage induit par la FA chronique en présence d'un substrat anatomique de FLA a été caractérisé, et ce pour la première fois. Ce remodelage est unique que ce soit au niveau du type d'arythmies induites, avec notamment des durées de cycle différentes.

D'un point de vue méthodologique, notre étude permet d'objectiver rigoureusement le circuit de macro-réentrée rencontré dans le modèle chirurgical d'atriectomie en Y. Contrairement aux hypothèses émises par différentes équipes (173, 190), suggérant la mise en place d'une macro-réentrée unique dépendante de l'ICT s'apparentant à un FLA typique, les cartographies d'activation réalisées au cours de notre étude permettent d'objectiver le circuit comme une double macro-réentrée, en forme de huit, similaire aux circuits post-opératoires de chirurgie cardiaque (168).

Le second axe d'étude avait pour objectif de caractériser l'effet distinct de l'arythmie atriale et de la réponse ventriculaire en cas de FA sur le remodelage atrial. Notre étude vient confirmer la théorie mécanistique de « la FA entretient la FA » (« FA begets AF ») avec la présence d'un remodelage atrial électrique secondairement à la présence d'une FA chronique, décrit initialement par Wijffels *et al.* (66). La présence d'un remodelage atrial structurel au cours de la FA reste une hypothèse mécanistique inconstante dans les études de recherche fondamentale, très probablement du fait de courtes durées de suivi(250). Cependant, notre étude met en évidence la présence d'un remodelage structurel avec notamment l'augmentation du processus fibrotique en cas de FA chronique après trois semaines de suivi. Ces données viennent conforter les données de recherche clinique objectivant l'implication d'un remodelage atrial structurel, faisant intervenir notamment des mécanismes fibrotiques (251). Cependant, cette étude de recherche translationnelle est la première à différencier l'effet propre de l'arythmie atriale d'une part, et de la réponse ventriculaire rapide d'autre part, dans l'initiation et le développement du remodelage atrial électrique et structurel. De plus, notre étude met en évidence l'effet synergique de l'arythmie atriale et de la réponse ventriculaire rapide en cas de FA, venant potentialiser l'intensité du remodelage atrial qu'il soit électrique, avec la présence d'anomalies de l'expression des connexines 43 au niveau des jonctions communicantes ou structurel avec l'augmentation de l'expression des collagènes 1A1 et 3A1 et l'augmentation de l'intensité du processus tissulaire fibrotique. Enfin, notre étude a permis de différencier l'effet de la réponse ventriculaire rapide en cas de FA et de la cardiopathie rythmique sur le remodelage atrial. En effet, les phénotypes rencontrés dans notre étude sont significativement différents.

La stratégie de contrôle de la fréquence ventriculaire est la prise en charge thérapeutique privilégiée en cas de FA par rapport à la stratégie de contrôle du rythme. Cependant, les modalités et les objectifs cliniques de contrôle de la fréquence en cas de FA ne sont pas précisément connus, rendant les modalités de sa mise en œuvre peu évidentes. Deux essais cliniques ont tenté de préciser les objectifs de fréquence ventriculaire à atteindre en cas de FA persistante et de stratégie de contrôle de la fréquence ventriculaire. Ces deux études possédaient le même design, comparant *via* des études contrôlées et randomisées une stratégie stricte de contrôle de la fréquence, avec un objectif de fréquence ventriculaire de repos en dessous de 80 bpm dans l'étude AFFIRM (252) et de 100 bpm dans l'étude RACE II (253), à un contrôle lâche de la fréquence ventriculaire. Aucune différence en terme de mortalité d'origine cardiovasculaire, d'hospitalisation pour insuffisance cardiaque, d'évènements ischémiques, hémorragiques ou de troubles rythmiques n'a été trouvée entre le contrôle lâche et le contrôle strict de la fréquence ventriculaire en cas de FA (254). Cependant, notre étude permet de mettre en évidence l'effet des fréquences ventriculaires rapides en cas de FA dans le développement du remodelage atrial électrique et structurel, agissant comme un substrat dans le maintien des arythmies supra-ventriculaires telles que la FA. Cet élément est certainement à prendre en considération dans la prise en charge thérapeutique des patients avec FA persistante en attente d'une intervention d'ablation de FA endocavitaire, afin de maîtriser au mieux le remodelage atrial électrique et structurel en phase pré-interventionnelle.

Enfin, notre étude a comparé différentes populations contrôles permettant de caractériser le remodelage atrial secondaire à la stimulation ventriculaire *via* la désynchronisation interventriculaire et atrioventriculaire. Notre étude, après trois semaines de suivi, n'a pas mis en évidence de remodelage électrique et structurel dans

le groupe avec dissociation atrio-ventriculaire par modulation du nœud atrio-ventriculaire et stimulation ventriculaire droite à 80 bpm par rapport au groupe contrôle aigüe et un groupe de chiens appareillés de stimulateur cardiaque endocavitaire mais sans thérapie de stimulation. En effet, aucune différence n'a été objectivée lors de l'étude électrophysiologique *in vivo*, ni lors de l'échocardiographie réalisée au terme des trois semaines de suivi. Ces données viennent pondérer les résultats de Neuberger *et al.* (242) qui avaient mis en évidence l'effet de la dissociation atrio-ventriculaire après modulation du nœud atrio-ventriculaire sur le remodelage atrial après quatre semaines de suivi utilisant un modèle ovin. Un remodelage atrial avait alors été objectivé avec une augmentation de la durée de la FA induite, associée à une dilatation de l'OG. Au niveau clinique, Sparks *et al.* (240) ont mis en évidence l'établissement d'un remodelage atrial électrique en cas de dissociation atrio-ventriculaire induit par un mode de stimulation exclusivement ventriculaire dans une étude de petite taille avec un suivi de longue durée. Les différences constatées entre notre étude et celle de Sparks sont probablement dues au fait que le suivi dans notre étude n'était que de trois semaines *versus* un suivi sur le long terme dans l'étude clinique. Les mécanismes de remodelage atrial secondaires à la stimulation endocavitaire ventriculaire droite ne sont donc pas précisément caractérisés, mais ceux-ci interviennent probablement au long cours, sans effet dans le premier mois de stimulation.

Le troisième axe d'étude s'est centré sur une intervention thérapeutique de modulation d'un des déterminants du remodelage atrial en cas de FA, le SNA, par un traitement pharmacologique. La cilnidipine est un inhibiteur des canaux calciques de type L et N. Cependant, la cilnidipine a une activité inhibitrice plus forte au niveau des canaux calciques de type N qu'au niveau des canaux de type L (15). La cilnidipine a

donc un mode d'action pharmacologique original par rapport aux autres inhibiteurs calciques, en modulant le SNA. La cilnidipine, par blocage des canaux calciques de type N au niveau des fibres nerveuses autonomes orthosympathiques, diminue le taux sérique de noradrénaline. Certaines études translationnelles *in vivo* tendent à prouver que la cilnidipine, du fait de son action modulatrice du SNA et probablement du SRAA, entraîne un contrôle du remodelage ventriculaire (255) et de la maladie rénale chronique (256). Notre étude a étudié pour la première fois l'effet de la modulation du SNA par la cilnidipine en cas de FA chronique. Après un suivi de trois semaines en cas de FA chronique, la cilnidipine permet de moduler le SNA, le remodelage électrique mais aussi le remodelage structurel avec notamment une diminution du processus fibrotique et une atténuation des anomalies au niveau des connexines constituant les jonctions communicantes inter-cardiomyocytaires atriales.

La modulation du SNA dans la FA en tant que thérapie anti-remodelante atriale et secondairement une action anti-arythmique a été testée en agissant sur plusieurs points clé de l'innervation autonome. À noter que certaines interventions de neuromodulation ont été uniquement testées dans des études translationnelles précliniques alors que d'autres ont bénéficié d'essais cliniques. La dénervation sympathique par ablation des ganglions stellaires au niveau thoracique a été proposée comme thérapie anti-arythmique, retardant la survenue des arythmies supra-ventriculaires et diminuant les gâchettes arythmogéniques et les accès de FA paroxystique (257). Cette technique présente cependant des limites du fait de son caractère invasif et de l'absence de recul quant aux conséquences des dommages irréversibles du système sympathique au long cours. La stimulation nerveuse vagale a également été testée, démontrant un effet concomitant de modulation orthosympathique (258). L'hyperstimulation vagale peut cependant entraîner un effet pro-arythmique. La

stimulation des barorécepteurs au niveau carotidien a été évaluée dans la FA. Elle permettrait une diminution de l'activité autonome orthosympathique mais les données expérimentales n'établissent pas toutes l'efficacité de cette technique comme traitement anti-arythmique atrial (259). L'ablation endocavitaire des plexus ganglionnaires rétro-cardiaques semble être la modulation la plus efficace du SNA comme thérapeutique anti-remodelante atriale électrique dans la FA (260). Cette technique semble prouver son efficacité dans les études animales et cliniques, même si des essais cliniques de forte puissance sont nécessaires pour confirmer l'efficacité de l'ablation des plexus ganglionnaires en sus de l'IVP en cas de FA paroxystique (261).

La modulation pharmacologique du SNA comme traitement anti-arythmique dans la FA a été testée *via* le blocage de plusieurs points clés de l'innervation autonome. L'administration des molécules bêtabloquantes tel que le metoprolol semble prouver son efficacité en tant que traitement anti-arythmique dans la FA à la suite d'une cardioversion électrique externe, même si la significativité clinique de son efficacité n'est pas clairement établie (262). Le rôle des bêtabloquants, comme thérapeutique anti-arythmique peut être illustré en cas de FA post-opératoire. En période post-opératoire de chirurgie cardiaque, des mécanismes inflammatoires, de dysrégulation calcique et du SNA interviennent (111). Même s'il n'existe pas de prise en charge thérapeutique codifiée, les molécules bêtabloquantes semblent avoir une propriété anti-arythmique. Le blocage du courant potassique médié par l'acétylcholine $I_{K,Ach}$ a également été proposé comme thérapeutique anti-arythmique (263). Un effet pro-arythmique, notamment à l'échelle ventriculaire, semble cependant limiter son bénéfice clinique net (264).

Ainsi, la cilnidipine semble jouer un rôle de neuromodulateur et ainsi limiter le remodelage atrial électrique et structurel en cas de FA chronique. De plus, cette

molécule est actuellement disponible, ayant obtenu son autorisation de mise sur le marché asiatique du fait de son action anti-hypertensive. Cette molécule ne semble pas posséder d'effets pro-arythmiques à l'étage atrial et ventriculaire, agissant en amont des cardiomyocytes, sans augmenter la réponse parasympathique et son effet pro-arythmique secondaire. Enfin, la cilnidipine présente l'avantage de moduler en même temps l'HTA, un facteur de risque de FA et le remodelage atrial induit par le SNA dont il est l'un des déterminants.

3. Futures directions

Le remodelage atrial secondaire au FLA chronique a été caractérisé dans notre étude, confirmant les précédents résultats quant au remodelage électrique atrial et objectivant l'absence de la mise en jeu de remodelage atrial structurel. Ce résultat peut être expliqué par deux hypothèses. Soit le FLA droit, du fait de sa fréquence plus faible et son caractère régulier par rapport à la FA, induit un remodelage atrial différent du remodelage électrique et structurel secondairement à la FA chronique. Soit la durée de suivi de trois semaines dans notre étude n'était pas suffisante afin de mettre en évidence le remodelage atrial structurel secondaire au FLA chronique. En effet, il est clairement établi que la chronologie de survenue du remodelage électrique et structurel est différente avec un remodelage structurel survenant au-delà de deux semaines de suivi en cas de FA alors que le remodelage électrique est objectivé dès les premiers jours de suivi. Il serait donc intéressant de caractériser le remodelage atrial secondaire au FLA chronique, *via* l'utilisation du même modèle chronique canin de FLA, en effectuant une durée de suivi plus longue, de l'ordre de deux à trois mois, afin de déterminer si un remodelage atrial structurel survient au long cours. La pertinence clinique de cette étude serait apportée par l'étude de la réversibilité du remodelage atrial induit par le FLA après ablation du substrat de FLA, ce qui permettrait d'éclairer le rôle de la prise en charge du FLA typique dans la prévention des troubles du rythme supra-ventriculaires de type FA.

Concernant le second axe de recherche, nous avons caractérisé le remodelage atrial électrique et structurel secondaire à la réponse ventriculaire rapide de la FA. Ce remodelage du fait d'une réponse ventriculaire rapide, sans qu'une cardiopathie rapide ne soit induite devrait être considéré dans la prise en charge clinique et thérapeutique

lorsqu'une stratégie de contrôle de la fréquence est décidée en cas de FA. Le remodelage atrial induit en cas de réponse ventriculaire rapide a été évalué par des évaluations invasives, que ce soit d'un point de vue électrique, avec des explorations électrophysiologiques endocavitaires, ou d'un point de vue structurel avec évaluation de l'expression des ARNm du collagène ou l'analyse tissulaire de la fibrose par coloration au Trichrome de Masson. Dans notre étude, l'apport de l'échocardiographie dans la caractérisation du remodelage structurel n'est pas clairement établi. Or, la caractérisation du remodelage structurel atrial en cas d'arythmie supraventriculaire a été améliorée par la quantification de la fibrose atriale par IRM. Il serait intéressant d'évaluer, à l'aide d'un modèle chronique canin de réponse ventriculaire rapide, la performance diagnostique de l'IRM du remodelage structurel (81, 133). Plusieurs aspects IRM pourraient être étudiés, tels que la mise en évidence de la fibrose atriale *via* la quantification des zones ayant un rehaussement tardif au gadolinium ou l'évaluation et la caractérisation de l'espace extracellulaire par T1 mapping et T2 mapping. Ce projet de recherche translationnelle aurait une pertinence clinique forte, proposant un dépistage précoce du remodelage atrial structurel objectivé en cas de stratégie de contrôle de la fréquence en cas de FA, notamment pour guider la chronologie d'un geste d'ablation endocavitaire ou une stratégie de contrôle du rythme différente.

De plus, la contribution relative des déterminants de la réponse ventriculaire en cas de FA sur remodelage atrial n'est pas clairement établie. En effet, plusieurs caractéristiques de la réponse ventriculaire secondaire à la FA pourraient avoir un rôle sur le remodelage atrial : la fréquence élevée, le caractère irrégulier de la dépolarisation et de la contraction ventriculaire ainsi que la désynchronisation inter-ventriculaire intervenant fréquemment. Il serait donc pertinent d'étudier, à l'aide de modèles chroniques canins, l'effet différentiel de la stimulation ventriculaire rapide, avec ou

sans désynchronisation interventriculaire (par stimulation atriale droite ou stimulation para-hissienne), avec ou sans caractère irrégulier (par stimulation régulière ou irrégulière).

Le troisième axe de recherche a permis d'identifier les propriétés anti-remodelantes atriales d'un inhibiteur des canaux de type N et L, la cilnidipine, *via* son action modulatrice du SNA, en cas de FA chronique. Notre étude a donc permis de mettre en évidence une action anti-arythmique potentielle de cette molécule à travers une étude animale pré-clinique. La cilnidipine pourrait présenter un bénéfice clinique net favorable en agissant comme une molécule anti-remodelante électrique et structurelle, et anti-hypertensive. De plus, elle possède des effets indésirables limités, n'ayant pas *a priori* d'effet pro-arythmique, cette molécule n'agissant pas directement sur les cardiomyocytes et n'entraînant pas d'hyperstimulation vagale. La limitation du remodelage atrial électrique et structurel en cas de FA, et de son effet pro-arythmogène semble significative. Un essai clinique interventionnel, contrôlé, randomisé semble nécessaire afin d'évaluer cette molécule en cas de FA paroxystique ou permanente, par rapport aux traitements pharmacologiques anti-arythmiques actuellement disponibles. Cette molécule pourrait être testée en post-ablation endocavitaire de FA. En effet, il n'existe pas de gestion consensuelle des thérapeutiques pharmacologiques au décours d'une procédure ablative de FA. Ceci du fait en partie des effets indésirables non négligeables des molécules anti-arythmiques actuellement disponibles, rendant leur bénéfice clinique net discutable. L'évaluation de la cilnidipine, une molécule disponible cliniquement, permettant une limitation du remodelage atrial par neuromodulation du SNA, sans effet indésirable systémique hormis le risque hypotensif, semble être cliniquement pertinente.

CHAPITRE 6 - Conclusion

La présente étude a donc permis de caractériser différents déterminants du remodelage atrial, qu'il soit électrique ou structurel, et de son effet pro-arythmique en cas de FA. Ainsi, différentes arythmies supra-ventriculaires, telles que le FLA et la FA, ainsi que différentes fréquences ventriculaires sont responsables de la mise en place et du développement du remodelage atrial. De plus, la modulation d'un des déterminants du remodelage atrial, le SNA, semble diminuer le remodelage atrial et son effet pro-arythmique en cas de FA. La caractérisation du remodelage atrial en cas de FA semble indispensable afin d'améliorer la prise en charge diagnostique et thérapeutique des patients présentant une FA.

BIBLIOGRAPHIE

1.

- Friberg L, Bergfeldt L. Atrial fibrillation prevalence revisited. *J. Intern. Med.* 2013;274:461–468.
2. Piccini JP, Hammill BG, Sinner MF, et al. Incidence and prevalence of atrial fibrillation and associated mortality among Medicare beneficiaries, 1993-2007. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 2012;5:85–93.
 3. Samol A, Masin M, Gellner R, et al. Prevalence of unknown atrial fibrillation in patients with risk factors. *Europace* 2013;15:657–662.
 4. Healey JS, Connolly SJ, Gold MR, et al. Subclinical atrial fibrillation and the risk of stroke. *N. Engl. J. Med.* 2012;366:120–129.
 5. Krijthe BP, Kunst A, Benjamin EJ, et al. Projections on the number of individuals with atrial fibrillation in the European Union, from 2000 to 2060. *Eur. Heart J.* 2013;34:2746–2751.
 6. Staerk L, Wang B, Preis SR, et al. Lifetime risk of atrial fibrillation according to optimal, borderline, or elevated levels of risk factors: cohort study based on longitudinal data from the Framingham Heart Study. *BMJ* 2018;361:k1453.
 7. Heeringa J, van der Kuip DAM, Hofman A, et al. Prevalence, incidence and lifetime risk of atrial fibrillation: the Rotterdam study. *Eur. Heart J.* 2006;27:949–953.
 8. Lloyd-Jones DM, Wang TJ, Leip EP, et al. Lifetime risk for development of atrial fibrillation: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2004;110:1042–1046.
 9. Kirchhof P, Benussi S, Kotecha D, et al. 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. *Europace* 2016;18:1609–1678.
 10. Blum S, Meyre P, Aeschbacher S, et al. Incidence and predictors of atrial fibrillation progression: A systematic review and meta-analysis. *Heart Rhythm* 2019;16:502–510.
 11. de Vos CB, Pisters R, Nieuwlaat R, et al. Progression from paroxysmal to persistent atrial fibrillation clinical correlates and prognosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2010;55:725–731.
 12. Kannel WB, Abbott RD, Savage DD, McNamara PM. Epidemiologic features of chronic atrial fibrillation: the Framingham study. *N. Engl. J. Med.* 1982;306:1018–1022.
 13. Ganesan AN, Shipp NJ, Brooks AG, et al. Long-term outcomes of catheter ablation of atrial fibrillation: a systematic review and meta-analysis. *J Am Heart Assoc* 2013;2:e004549.
 14. Bhargava M, Di Biase L, Mohanty P, et al. Impact of type of atrial fibrillation and

repeat catheter ablation on long-term freedom from atrial fibrillation: results from a multicenter study. *Heart Rhythm* 2009;6:1403–1412.

15. Wolf PA, Abbott RD, Kannel WB. Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke: the Framingham Study. *Stroke* 1991;22:983–988.

16. Rietbrock S, Heeley E, Plumb J, van Staa T. Chronic atrial fibrillation: Incidence, prevalence, and prediction of stroke using the Congestive heart failure, Hypertension, Age >75, Diabetes mellitus, and prior Stroke or transient ischemic attack (CHADS2) risk stratification scheme. *Am. Heart J.* 2008;156:57–64.

17. Cotter PE, Martin PJ, Ring L, Warburton EA, Belham M, Pugh PJ. Incidence of atrial fibrillation detected by implantable loop recorders in unexplained stroke. *Neurology* 2013;80:1546–1550.

18. van den Ham HA, Klungel OH, Singer DE, Leufkens HGM, van Staa TP. Comparative Performance of ATRIA, CHADS2, and CHA2DS2-VASc Risk Scores Predicting Stroke in Patients With Atrial Fibrillation: Results From a National Primary Care Database. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2015;66:1851–1859.

19. Lip GYH, Nieuwlaat R, Pisters R, Lane DA, Crijns HJGM. Refining clinical risk stratification for predicting stroke and thromboembolism in atrial fibrillation using a novel risk factor-based approach: the euro heart survey on atrial fibrillation. *Chest* 2010;137:263–272.

20. Sugumar H, Prabhu S, Voskoboinik A, Kistler PM. Arrhythmia induced cardiomyopathy. *J Arrhythm* 2018;34:376–383.

21. Marini C, De Santis F, Sacco S, et al. Contribution of atrial fibrillation to incidence and outcome of ischemic stroke: results from a population-based study. *Stroke* 2005;36:1115–1119.

22. Chamberlain AM, Redfield MM, Alonso A, Weston SA, Roger VL. Atrial fibrillation and mortality in heart failure: a community study. *Circ Heart Fail* 2011;4:740–746.

23. Chugh SS, Havmoeller R, Narayanan K, et al. Worldwide epidemiology of atrial fibrillation: a Global Burden of Disease 2010 Study. *Circulation* 2014;129:837–847.

24. Wyse DG, Waldo AL, DiMarco JP, et al. A comparison of rate control and rhythm control in patients with atrial fibrillation. *N. Engl. J. Med.* 2002;347:1825–1833.

25. Packer DL, Mark DB, Robb RA, et al. Effect of Catheter Ablation vs Antiarrhythmic Drug Therapy on Mortality, Stroke, Bleeding, and Cardiac Arrest Among Patients With Atrial Fibrillation: The CABANA Randomized Clinical Trial.

JAMA 2019.

26. Udompanich S, Lip GYH, Apostolakis S, Lane DA. Atrial fibrillation as a risk factor for cognitive impairment: a semi-systematic review. *QJM* 2013;106:795–802.
27. Liao J-N, Chao T-F, Liu C-J, et al. Risk and prediction of dementia in patients with atrial fibrillation--a nationwide population-based cohort study. *Int. J. Cardiol.* 2015;199:25–30.
28. Marzona I, O'Donnell M, Teo K, et al. Increased risk of cognitive and functional decline in patients with atrial fibrillation: results of the ONTARGET and TRANSCEND studies. *CMAJ* 2012;184:E329-336.
29. Zito M, Muscari A, Marini E, Di Iorio A, Puddu GM, Abate G. Silent lacunar infarcts in elderly patients with chronic non valvular atrial fibrillation. *Aging (Milano)* 1996;8:341–346.
30. Lavy S, Stern S, Melamed E, Cooper G, Keren A, Levy P. Effect of chronic atrial fibrillation on regional cerebral blood flow. *Stroke* 1980;11:35–38.
31. Dorian P, Jung W, Newman D, et al. The impairment of health-related quality of life in patients with intermittent atrial fibrillation: implications for the assessment of investigational therapy. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000;36:1303–1309.
32. Singh SN, Tang XC, Singh BN, et al. Quality of life and exercise performance in patients in sinus rhythm versus persistent atrial fibrillation: a Veterans Affairs Cooperative Studies Program Substudy. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006;48:721–730.
33. Johnsen SP, Dalby LW, Täckström T, Olsen J, Fraschke A. Cost of illness of atrial fibrillation: a nationwide study of societal impact. *BMC Health Serv Res* 2017;17. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5681797/>. Accessed April 24, 2019.
34. Hart RG, Pearce LA, Aguilar MI. Meta-analysis: antithrombotic therapy to prevent stroke in patients who have nonvalvular atrial fibrillation. *Ann. Intern. Med.* 2007;146:857–867.
35. Miller CS, Grandi SM, Shimony A, Filion KB, Eisenberg MJ. Meta-analysis of efficacy and safety of new oral anticoagulants (dabigatran, rivaroxaban, apixaban) versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *Am. J. Cardiol.* 2012;110:453–460.
36. January CT, Wann LS, Alpert JS, et al. 2014 AHA/ACC/HRS Guideline for the Management of Patients With Atrial Fibrillation. *Journal of the American College of Cardiology* 2014;64:e1–e76.
37. Cardiac Arrhythmia Suppression Trial (CAST) Investigators. Preliminary report:

- effect of encainide and flecainide on mortality in a randomized trial of arrhythmia suppression after myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 1989;321:406–412.
38. Fetsch T, Bauer P, Engberding R, et al. Prevention of atrial fibrillation after cardioversion: results of the PAFAC trial. *Eur. Heart J.* 2004;25:1385–1394.
39. Goldschlager N, Epstein AE, Naccarelli GV, et al. A practical guide for clinicians who treat patients with amiodarone: 2007. *Heart Rhythm* 2007;4:1250–1259.
40. Roy D, Talajic M, Dorian P, et al. Amiodarone to prevent recurrence of atrial fibrillation. Canadian Trial of Atrial Fibrillation Investigators. *N. Engl. J. Med.* 2000;342:913–920.
41. Singh BN, Connolly SJ, Crijns HJGM, et al. Dronedarone for maintenance of sinus rhythm in atrial fibrillation or flutter. *N. Engl. J. Med.* 2007;357:987–999.
42. Køber L, Torp-Pedersen C, McMurray JJV, et al. Increased mortality after dronedarone therapy for severe heart failure. *N. Engl. J. Med.* 2008;358:2678–2687.
43. Connolly SJ, Camm AJ, Halperin JL, et al. Dronedarone in High-Risk Permanent Atrial Fibrillation. *New England Journal of Medicine* 2011;365:2268–2276.
44. Lafuente-Lafuente C, Longas-Tejero MA, Bergmann J-F, Belmin J. Antiarrhythmics for maintaining sinus rhythm after cardioversion of atrial fibrillation. *Cochrane Database Syst Rev* 2012:CD005049.
45. Al-Khatib SM, Allen LaPointe NM, Chatterjee R, et al. Rate- and rhythm-control therapies in patients with atrial fibrillation: a systematic review. *Ann. Intern. Med.* 2014;160:760–773.
46. Roy D, Talajic M, Nattel S, et al. Rhythm control versus rate control for atrial fibrillation and heart failure. *N. Engl. J. Med.* 2008;358:2667–2677.
47. Van Gelder IC, Hagens VE, Bosker HA, et al. A comparison of rate control and rhythm control in patients with recurrent persistent atrial fibrillation. *N. Engl. J. Med.* 2002;347:1834–1840.
48. Haïssaguerre M, Jaïs P, Shah DC, et al. Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins. *N. Engl. J. Med.* 1998;339:659–666.
49. Cox JL, Boineau JP, Schuessler RB, et al. Successful surgical treatment of atrial fibrillation. Review and clinical update. *JAMA* 1991;266:1976–1980.
50. Calkins H, Kuck KH, Cappato R, et al. 2012 HRS/EHRA/ECAS Expert Consensus Statement on Catheter and Surgical Ablation of Atrial Fibrillation: recommendations for patient selection, procedural techniques, patient management and follow-up,

- definitions, endpoints, and research trial design. *Europace* 2012;14:528–606.
51. al BL et. Atrial fibrillation catheter ablation versus surgical ablation treatment (FAST): a 2-center randomized clinical trial. - PubMed - NCBI. Available at: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Boersma+LV%2C+Castella+M%2C+van+Boven+W%2C+Berruezo+A%2C+Yilmaz+A%2C+Nadal+M%2C+Sandoval+E%2C+Calvo+N%2C+Brugada+J%2C+Kelder+J%2C+Wijffels+M%2C+Mont+L.+Atrial+fibrillation+catheter+ablation+versus+surgical+ablation+treatment+\(FAST\)%3A+a+2-center+randomized+clinical+trial.+Circulation+2012](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Boersma+LV%2C+Castella+M%2C+van+Boven+W%2C+Berruezo+A%2C+Yilmaz+A%2C+Nadal+M%2C+Sandoval+E%2C+Calvo+N%2C+Brugada+J%2C+Kelder+J%2C+Wijffels+M%2C+Mont+L.+Atrial+fibrillation+catheter+ablation+versus+surgical+ablation+treatment+(FAST)%3A+a+2-center+randomized+clinical+trial.+Circulation+2012). Accessed May 13, 2019.
52. Kuck K-H, Brugada J, Fürnkranz A, et al. Cryoballoon or Radiofrequency Ablation for Paroxysmal Atrial Fibrillation. *N. Engl. J. Med.* 2016;374:2235–2245.
53. Knight BP, Novak PG, Sangrigoli R, et al. Long-Term Outcomes After Ablation for Paroxysmal Atrial Fibrillation Using the Second-Generation Cryoballoon: Final Results From STOP AF Post-Approval Study. *JACC Clin Electrophysiol* 2019;5:306–314.
54. Huffman MD, Karmali KN, Berendsen MA, et al. Concomitant atrial fibrillation surgery for people undergoing cardiac surgery. *Cochrane Database Syst Rev* 2016:CD011814.
55. Arbelo E, Brugada J, Hindricks G, et al. The atrial fibrillation ablation pilot study: a European Survey on Methodology and results of catheter ablation for atrial fibrillation conducted by the European Heart Rhythm Association. *Eur. Heart J.* 2014;35:1466–1478.
56. Cappato R, Calkins H, Chen S-A, et al. Updated worldwide survey on the methods, efficacy, and safety of catheter ablation for human atrial fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2010;3:32–38.
57. Kuck K-H, Hoffmann BA, Ernst S, et al. Impact of Complete Versus Incomplete Circumferential Lines Around the Pulmonary Veins During Catheter Ablation of Paroxysmal Atrial Fibrillation: Results From the Gap-Atrial Fibrillation-German Atrial Fibrillation Competence Network 1 Trial. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2016;9:e003337.
58. Verma A, Jiang C, Betts TR, et al. Approaches to Catheter Ablation for Persistent Atrial Fibrillation. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1408288> 2015. Available at: https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1408288?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dwww.ncbi.nlm.nih.gov. Accessed April 27, 2019.

59. Andreasen L, Nielsen JB, Olesen MS. Genetic aspects of lone atrial fibrillation: what do we know? *Curr. Pharm. Des.* 2015;21:667–678.
60. Guichard J-B, Nattel S. Atrial Cardiomyopathy: A Useful Notion in Cardiac Disease Management or a Passing Fad? *Journal of the American College of Cardiology* 2017;70.
61. Moreira W, Timmermans C, Wellens HJJ, et al. Can common-type atrial flutter be a sign of an arrhythmogenic substrate in paroxysmal atrial fibrillation? Clinical and ablative consequences in patients with coexistent paroxysmal atrial fibrillation/atrial flutter. *Circulation* 2007;116:2786–92.
62. Boriani G, Laroche C, Diemberger I, et al. Asymptomatic Atrial Fibrillation: Clinical Correlates, Management, and Outcomes in the EORP-AF Pilot General Registry. *The American Journal of Medicine* 2015;128:509-518.e2.
63. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur. Heart J.* 2016;37:2129–2200.
64. Chatap G, Giraud K, Vincent J-P. Atrial fibrillation in the elderly: facts and management. *Drugs Aging* 2002;19:819–846.
65. Andrade J, Khairy P, Dobrev D, Nattel S. The clinical profile and pathophysiology of atrial fibrillation: relationships among clinical features, epidemiology, and mechanisms. *Circ. Res.* 2014;114:1453–1468.
66. Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, Allessie MA. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation* 1995;92:1954–1968.
67. Schotten U, Verheule S, Kirchhof P, Goette A. Pathophysiological mechanisms of atrial fibrillation: a translational appraisal. *Physiol. Rev.* 2011;91:265–325.
68. Skasa M, Jüngling E, Picht E, Schöndube F, Lückhoff A. L-type calcium currents in atrial myocytes from patients with persistent and non-persistent atrial fibrillation. *Basic Res. Cardiol.* 2001;96:151–159.
69. Bosch RF, Zeng X, Grammer JB, Popovic K, Mewis C, Kühlkamp V. Ionic mechanisms of electrical remodeling in human atrial fibrillation. *Cardiovasc. Res.* 1999;44:121–131.
70. Dobrev D, Wettwer E, Kortner A, Knaut M, Schüler S, Ravens U. Human inward

- rectifier potassium channels in chronic and postoperative atrial fibrillation. *Cardiovasc. Res.* 2002;54:397–404.
71. Grammer JB, Bosch RF, Kühlkamp V, Seipel L. Molecular remodeling of Kv4.3 potassium channels in human atrial fibrillation. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2000;11:626–633.
72. Brundel BJ, Van Gelder IC, Henning RH, et al. Ion channel remodeling is related to intraoperative atrial effective refractory periods in patients with paroxysmal and persistent atrial fibrillation. *Circulation* 2001;103:684–690.
73. Ehrlich JR, Cha T-J, Zhang L, et al. Characterization of a hyperpolarization-activated time-dependent potassium current in canine cardiomyocytes from pulmonary vein myocardial sleeves and left atrium. *J. Physiol. (Lond.)* 2004;557:583–597.
74. Nattel S, Maguy A, Le Bouter S, Yeh Y-H. Arrhythmogenic ion-channel remodeling in the heart: heart failure, myocardial infarction, and atrial fibrillation. *Physiol. Rev.* 2007;87:425–456.
75. Heijman J, Voigt N, Nattel S, Dobrev D. Calcium handling and atrial fibrillation. *Wien Med Wochenschr* 2012;162:287–291.
76. Chen P-S, Chen LS, Fishbein MC, Lin S-F, Nattel S. Role of the autonomic nervous system in atrial fibrillation: pathophysiology and therapy. *Circ. Res.* 2014;114:1500–1515.
77. Stambler BS, Fenelon G, Shepard RK, Clemo HF, Guiraudon CM. Characterization of sustained atrial tachycardia in dogs with rapid ventricular pacing-induced heart failure. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2003;14:499–507.
78. Bosch RF, Scherer CR, Rüb N, et al. Molecular mechanisms of early electrical remodeling: transcriptional downregulation of ion channel subunits reduces I(Ca,L) and I(to) in rapid atrial pacing in rabbits. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2003;41:858–869.
79. Gaspo R, Bosch RF, Bou-Abboud E, Nattel S. Tachycardia-induced changes in Na⁺ current in a chronic dog model of atrial fibrillation. *Circ. Res.* 1997;81:1045–1052.
80. Burstein B, Nattel S. Atrial fibrosis: mechanisms and clinical relevance in atrial fibrillation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008;51:802–809.
81. Higuchi K, Akkaya M, Akoum N, Marrouche NF. Cardiac MRI assessment of atrial fibrosis in atrial fibrillation: implications for diagnosis and therapy. *Heart* 2014;100:590–596.
82. Spach MS, Dolber PC. Relating extracellular potentials and their derivatives to anisotropic propagation at a microscopic level in human cardiac muscle. Evidence for

- electrical uncoupling of side-to-side fiber connections with increasing age. *Circ. Res.* 1986;58:356–371.
83. Koura T, Hara M, Takeuchi S, et al. Anisotropic conduction properties in canine atria analyzed by high-resolution optical mapping: preferential direction of conduction block changes from longitudinal to transverse with increasing age. *Circulation* 2002;105:2092–2098.
84. Weber KT, Sun Y, Katwa LC, Cleutjens JP. Tissue repair and angiotensin II generated at sites of healing. *Basic Res. Cardiol.* 1997;92:75–78.
85. Lijnen PJ, Petrov VV, Fagard RH. Induction of cardiac fibrosis by transforming growth factor-beta(1). *Mol. Genet. Metab.* 2000;71:418–435.
86. Thomsen MB, Calloe K. Human atrial fibroblasts and their contribution to supraventricular arrhythmia. *Physiol Rep* 2016;4. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4758929/>. Accessed May 27, 2019.
87. Kato T, Iwasaki Y, Nattel S. Connexins and atrial fibrillation: filling in the gaps. *Circulation* 2012;125:203–206.
88. Burstein B, Comtois P, Michael G, et al. Changes in connexin expression and the atrial fibrillation substrate in congestive heart failure. *Circ. Res.* 2009;105:1213–1222.
89. Spach MS, Heidlage JF. The stochastic nature of cardiac propagation at a microscopic level. Electrical description of myocardial architecture and its application to conduction. *Circ. Res.* 1995;76:366–380.
90. Sparks PB, Mond HG, Vohra JK, Yapanis AG, Grigg LE, Kalman JM. Mechanical remodeling of the left atrium after loss of atrioventricular synchrony. A long-term study in humans. *Circulation* 1999;100:1714–1721.
91. Yue L, Xie J, Nattel S. Molecular determinants of cardiac fibroblast electrical function and therapeutic implications for atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 2011;89:744–753.
92. Benjamin EJ, Levy D, Vaziri SM, D’Agostino RB, Belanger AJ, Wolf PA. Independent risk factors for atrial fibrillation in a population-based cohort. The Framingham Heart Study. *JAMA* 1994;271:840–844.
93. Krijthe BP, Heeringa J, Kors JA, et al. Serum potassium levels and the risk of atrial fibrillation: the Rotterdam Study. *Int. J. Cardiol.* 2013;168:5411–5415.
94. Lancaster TS, Schill MR, Greenberg JW, et al. Potassium and Magnesium Supplementation do not protect against Atrial Fibrillation after Cardiac Surgery: a Time-Matched Analysis. *Ann Thorac Surg* 2016;102:1181–1188.

95. Yamashita Takeshi, Murakawa Yuji, Sezaki Kazunori, et al. Circadian Variation of Paroxysmal Atrial Fibrillation. *Circulation* 1997;96:1537–1541.
96. Rosano GM, Leonardo F, Sarrel PM, Beale CM, De Luca F, Collins P. Cyclical variation in paroxysmal supraventricular tachycardia in women. *Lancet* 1996;347:786–788.
97. Linz D, Hohl M, Vollmar J, Ukena C, Mahfoud F, Böhm M. Atrial fibrillation and gastroesophageal reflux disease: the cardiogastric interaction. *Europace* 2017;19:16–20.
98. Zhang L, Hou Y, Po SS. Obstructive Sleep Apnoea and Atrial Fibrillation. *Arrhythm Electrophysiol Rev* 2015;4:14–18.
99. Laredo M, Waldmann V, Khairy P, Nattel S. Age as a Critical Determinant of Atrial Fibrillation: A Two-sided Relationship. *Can J Cardiol* 2018;34:1396–1406.
100. Lau DH, Mackenzie L, Kelly DJ, et al. Hypertension and atrial fibrillation: evidence of progressive atrial remodeling with electrostructural correlate in a conscious chronically instrumented ovine model. *Heart Rhythm* 2010;7:1282–1290.
101. Boyden PA, Tilley LP, Pham TD, Liu SK, Fenoglio JJ, Wit AL. Effects of left atrial enlargement on atrial transmembrane potentials and structure in dogs with mitral valve fibrosis. *Am. J. Cardiol.* 1982;49:1896–1908.
102. Deroubaix E, Folliguet T, Rücker-Martin C, et al. Moderate and chronic hemodynamic overload of sheep atria induces reversible cellular electrophysiologic abnormalities and atrial vulnerability. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2004;44:1918–1926.
103. Kamkin A, Kiseleva I, Wagner K-D, et al. Characterization of stretch-activated ion currents in isolated atrial myocytes from human hearts. *Pflugers Arch.* 2003;446:339–346.
104. Zobel C, Rana OR, Saygili E, et al. Mechanisms of Ca²⁺-dependent calcineurin activation in mechanical stretch-induced hypertrophy. *Cardiology* 2007;107:281–290.
105. Pikkarainen S, Tokola H, Kerkelä R, et al. Inverse regulation of preproendothelin-1 and endothelin-converting enzyme-1beta genes in cardiac cells by mechanical load. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2006;290:R1639-1645.
106. Verheule S, Wilson E, Everett T, Shanbhag S, Golden C, Olgin J. Alterations in atrial electrophysiology and tissue structure in a canine model of chronic atrial dilatation due to mitral regurgitation. *Circulation* 2003;107:2615–2622.
107. Chen M-C, Chang J-P, Liu W-H, et al. Increased serum oxidative stress in patients with severe mitral regurgitation: a new finding and potential mechanism for atrial

- enlargement. *Clin. Biochem.* 2009;42:943–948.
108. Kistler PM, Sanders P, Dodic M, et al. Atrial electrical and structural abnormalities in an ovine model of chronic blood pressure elevation after prenatal corticosteroid exposure: implications for development of atrial fibrillation. *Eur. Heart J.* 2006;27:3045–3056.
109. Frustaci A, Chimenti C, Bellocci F, Morgante E, Russo MA, Maseri A. Histological substrate of atrial biopsies in patients with lone atrial fibrillation. *Circulation* 1997;96:1180–1184.
110. Kumagai K, Tojo H, Yasuda T, et al. Treatment of mixed atrial fibrillation and typical atrial flutter by hybrid catheter ablation. *Pacing Clin Electrophysiol* 2000;23:1839–1842.
111. Dobrev D, Aguilar M, Heijman J, Guichard J-B, Nattel S. Postoperative atrial fibrillation: mechanisms, manifestations and management. *Nat Rev Cardiol* 2019.
112. Bruins P, te Velthuis H, Yazdanbakhsh AP, et al. Activation of the complement system during and after cardiopulmonary bypass surgery: postsurgery activation involves C-reactive protein and is associated with postoperative arrhythmia. *Circulation* 1997;96:3542–3548.
113. Korantzopoulos P, Kolettis T, Siogas K, Goudevenos J. Atrial fibrillation and electrical remodeling: the potential role of inflammation and oxidative stress. *Med. Sci. Monit.* 2003;9:RA225-229.
114. Sata N, Hamada N, Horinouchi T, et al. C-reactive protein and atrial fibrillation. Is inflammation a consequence or a cause of atrial fibrillation? *Jpn Heart J* 2004;45:441–445.
115. Petersen AMW, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J. Appl. Physiol.* 2005;98:1154–1162.
116. Yao C, Veleva T, Scott L, et al. Enhanced Cardiomyocyte NLRP3 Inflammasome Signaling Promotes Atrial Fibrillation. *Circulation* 2018.
117. Mancia Giuseppe, Grassi Guido. The Autonomic Nervous System and Hypertension. *Circulation Research* 2014;114:1804–1814.
118. Zhou S, Chen LS, Miyauchi Y, et al. Mechanisms of cardiac nerve sprouting after myocardial infarction in dogs. *Circ. Res.* 2004;95:76–83.
119. Ikeda T, Murai H, Kaneko S, et al. Augmented single-unit muscle sympathetic nerve activity in heart failure with chronic atrial fibrillation. *J. Physiol. (Lond.)* 2012;590:509–518.

120. Elliott AD, Maatman B, Emery MS, Sanders P. The role of exercise in atrial fibrillation prevention and promotion: Finding optimal ranges for health. *Heart Rhythm* 2017;14:1713–1720.
121. Linz D, Elliott AD, Hohl M, et al. Role of autonomic nervous system in atrial fibrillation. *Int. J. Cardiol.* 2019;287:181–188.
122. Nattel S, Dobrev D. The multidimensional role of calcium in atrial fibrillation pathophysiology: mechanistic insights and therapeutic opportunities. *Eur. Heart J.* 2012;33:1870–1877.
123. Nerbonne JM, Kass RS. Molecular physiology of cardiac repolarization. *Physiol. Rev.* 2005;85:1205–1253.
124. Voigt N, Li N, Wang Q, et al. Enhanced sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ leak and increased Na⁺-Ca²⁺ exchanger function underlie delayed afterdepolarizations in patients with chronic atrial fibrillation. *Circulation* 2012;125:2059–2070.
125. Liu L, Nattel S. Differing sympathetic and vagal effects on atrial fibrillation in dogs: role of refractoriness heterogeneity. *Am. J. Physiol.* 1997;273:H805-816.
126. Barbosa EC, Benchimol-Barbosa PR, Bomfim A de S, Rocha PJ da, Boghossian SHC, Albuquerque DC de. Reversal atrial electrical remodeling following cardioversion of long-standing lone atrial fibrillation. *Arq. Bras. Cardiol.* 2009;93:213–220.
127. Narayan SM, Baykaner T, Clopton P, et al. Ablation of rotor and focal sources reduces late recurrence of atrial fibrillation compared with trigger ablation alone: extended follow-up of the CONFIRM trial (Conventional Ablation for Atrial Fibrillation With or Without Focal Impulse and Rotor Modulation). *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014;63:1761–1768.
128. Ramanathan C, Ghanem RN, Jia P, Ryu K, Rudy Y. Noninvasive electrocardiographic imaging for cardiac electrophysiology and arrhythmia. *Nat. Med.* 2004;10:422–428.
129. Takemoto Y, Ramirez RJ, Kaur K, et al. Eplerenone Reduces Atrial Fibrillation Burden Without Preventing Atrial Electrical Remodeling. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2017;70:2893–2905.
130. Healey JS, Baranchuk A, Crystal E, et al. Prevention of atrial fibrillation with angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers: a meta-analysis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005;45:1832–1839.
131. Milliez P, Deangelis N, Rucker-Martin C, et al. Spironolactone reduces fibrosis of

- dilated atria during heart failure in rats with myocardial infarction. *Eur. Heart J.* 2005;26:2193–2199.
132. Cha T-J, Ehrlich JR, Zhang L, et al. Dissociation between ionic remodeling and ability to sustain atrial fibrillation during recovery from experimental congestive heart failure. *Circulation* 2004;109:412–418.
133. Mahnkopf C, Badger TJ, Burgon NS, et al. Evaluation of the left atrial substrate in patients with lone atrial fibrillation using delayed-enhanced MRI: implications for disease progression and response to catheter ablation. *Heart Rhythm* 2010;7:1475–1481.
134. Kuppahally SS, Akoum N, Burgon NS, et al. Left atrial strain and strain rate in patients with paroxysmal and persistent atrial fibrillation: relationship to left atrial structural remodeling detected by delayed-enhancement MRI. *Circ Cardiovasc Imaging* 2010;3:231–239.
135. McMichael J. History of atrial fibrillation 1628-1819 Harvey - de Senac - Laënnec. *British heart journal* 1982;48:193–7.
136. Silverman ME. From rebellious palpitations to the discovery of auricular fibrillation: contributions of Mackenzie, Lewis and Einthoven. *Am. J. Cardiol.* 1994;73:384–389.
137. Jolly WA, Ritchie WT. Auricular flutter and fibrillation. 1911. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2003;8:92–96.
138. Rahman F, Wang N, Yin X, et al. Atrial flutter: Clinical risk factors and adverse outcomes in the Framingham Heart Study. *Heart Rhythm* 2016;13:233–240.
139. Mareedu RK, Abdalrahman IB, Dharmashankar KC, et al. Atrial flutter versus atrial fibrillation in a general population: differences in comorbidities associated with their respective onset. *Clin Med Res* 2010;8:1–6.
140. Krahn AD, Manfreda J, Tate RB, Mathewson FA, Cuddy TE. The natural history of atrial fibrillation: incidence, risk factors, and prognosis in the Manitoba Follow-Up Study. *Am. J. Med.* 1995;98:476–484.
141. Iwasaki Y, Nishida K, Kato T, Nattel S. Atrial fibrillation pathophysiology: implications for management. *Circulation* 2011;124:2264–2274.
142. García-Cosío F, Pastor Fuentes A, Núñez Angulo A. Arrhythmias (IV). Clinical approach to atrial tachycardia and atrial flutter from an understanding of the mechanisms. *Electrophysiology based on anatomy. Rev Esp Cardiol (Engl Ed)* 2012;65:363–375.

143. Voight J, Akkaya M, Somasundaram P, et al. Risk of new-onset atrial fibrillation and stroke after radiofrequency ablation of isolated, typical atrial flutter. *Heart Rhythm* 2014;11:1884–1889.
144. Da Costa A, Romeyer C, Mourot S, et al. Factors associated with early atrial fibrillation after ablation of common atrial flutter. A single centre prospective study. *Eur. Heart J.* 2002;23:498–506.
145. Almeida ED, Guimarães RB, Stephan LS, et al. Clinical Differences between Subtypes of Atrial Fibrillation and Flutter: Cross-Sectional Registry of 407 Patients. *Arq. Bras. Cardiol.* 2015;105:3–10.
146. Celikyurt U, Knecht S, Kuehne M, et al. Incidence of new-onset atrial fibrillation after cavotricuspid isthmus ablation for atrial flutter. *Europace* 2017;19:1776–1780.
147. Lee Y-S, Hyun DW, Jung BC, et al. Left atrial volume index as a predictor for occurrence of atrial fibrillation after ablation of typical atrial flutter. *J Cardiol* 2010;56:348–353.
148. Chen K, Bai R, Deng W, et al. HATCH score in the prediction of new-onset atrial fibrillation after catheter ablation of typical atrial flutter. *Heart Rhythm* 2015;12:1483–1489.
149. Benjamin EJ, Wolf PA, D’Agostino RB, Silbershatz H, Kannel WB, Levy D. Impact of atrial fibrillation on the risk of death: the Framingham Heart Study. *Circulation* 1998;98:946–952.
150. Granada J, Uribe W, Chyou PH, et al. Incidence and predictors of atrial flutter in the general population. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000;36:2242–2246.
151. Gula LJ, Redfearn DP, Jenkyn KB, et al. Elevated Incidence of Atrial Fibrillation and Stroke in Patients With Atrial Flutter-A Population-Based Study. *Can J Cardiol* 2018;34:774–783.
152. Hsieh M-H, Tai C-T, Chiang C-E, et al. Recurrent atrial flutter and atrial fibrillation after catheter ablation of the cavotricuspid isthmus: a very long-term follow-up of 333 patients. *J Interv Card Electrophysiol* 2002;7:225–231.
153. Maskoun W, Pino MI, Ayoub K, et al. Incidence of Atrial Fibrillation After Atrial Flutter Ablation. *JACC: Clinical Electrophysiology* 2016;2:682–690.
154. Mittal S, Pokushalov E, Romanov A, et al. Long-term ECG monitoring using an implantable loop recorder for the detection of atrial fibrillation after cavotricuspid isthmus ablation in patients with atrial flutter. *Heart Rhythm* 2013;10:1598–1604.
155. Pérez Francisco J., Schubert Christine M., Parvez Babar, Pathak Vishesh,

Ellenbogen Kenneth A., Wood Mark A. Long-Term Outcomes After Catheter Ablation of Cavo-Tricuspid Isthmus Dependent Atrial Flutter. *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology* 2009;2:393–401.

156. Sauer WH, Alonso C, Zado E, et al. Atrioventricular nodal reentrant tachycardia in patients referred for atrial fibrillation ablation: response to ablation that incorporates slow-pathway modification. *Circulation* 2006;114:191–195.

157. Interian A, Cox MM, Jimenez RA, et al. A shared pathway in atrioventricular nodal reentrant tachycardia and atrial flutter: implications for pathophysiology and therapy. *Am. J. Cardiol.* 1993;71:297–303.

158. Nattel S, Shiroshita-Takeshita A, Cardin S, Pelletier P. Mechanisms of atrial remodeling and clinical relevance. *Curr. Opin. Cardiol.* 2005;20:21–25.

159. Kalbfleisch SJ, el-Atassi R, Calkins H, Langberg JJ, Morady F. Association between atrioventricular node reentrant tachycardia and inducible atrial flutter. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1993;22:80–84.

160. Bouzin M, Cavaco D, Adragão P, et al. Atrial flutter after pulmonary vein isolation. *Rev Port Cardiol* 2010;29:1761–1764.

161. Thomas SP, Nunn GR, Nicholson IA, et al. Mechanism, localization and cure of atrial arrhythmias occurring after a new intraoperative endocardial radiofrequency ablation procedure for atrial fibrillation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000;35:442–450.

162. Seara JG, Roubin SR, Gude Sampedro F, et al. Risk of atrial fibrillation, stroke, and death after radiofrequency catheter ablation of typical atrial flutter. *Clin Res Cardiol* 2014;103:543–552.

163. Vadmann H, Nielsen PB, Hjortshøj SP, et al. Atrial flutter and thromboembolic risk: a systematic review. *Heart* 2015;101:1446–1455.

164. Cresti A, García-Fernández MA, De Sensi F, et al. Prevalence of auricular thrombosis before atrial flutter cardioversion: a 17-year transoesophageal echocardiographic study. *Europace* 2016;18:450–456.

165. Tomson TT, Kapa S, Bala R, et al. Risk of stroke and atrial fibrillation after radiofrequency catheter ablation of typical atrial flutter. *Heart Rhythm* 2012;9:1779–1784.

166. Lin Y-S, Chen T-H, Chi C-C, et al. Different Implications of Heart Failure, Ischemic Stroke, and Mortality Between Nonvalvular Atrial Fibrillation and Atrial Flutter-a View From a National Cohort Study. *J Am Heart Assoc* 2017;6.

167. Al-Kawaz M, Omran SS, Parikh NS, Elkind MSV, Soliman EZ, Kamel H.

Comparative Risks of Ischemic Stroke in Atrial Flutter versus Atrial Fibrillation. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2018;27:839–844.

168. Cosio FG, Arribas F, López-Gil M, Palacios J. Atrial flutter mapping and ablation. I. Studying atrial flutter mechanisms by mapping and entrainment. *Pacing Clin Electrophysiol* 1996;19:841–853.

169. Cosío FG. Atrial Flutter, Typical and Atypical: A Review. *Arrhythm Electrophysiol Rev* 2017;6:55–62.

170. Lewis T. The mechanism and graphic registration of the heart beat. London, Shaw; 1920. Available at: <http://archive.org/details/mechanismgraphic00lewiuoft>. Accessed May 21, 2019.

171. Wu TJ, Yashima M, Xie F, et al. Role of pectinate muscle bundles in the generation and maintenance of intra-atrial reentry: potential implications for the mechanism of conversion between atrial fibrillation and atrial flutter. *Circ. Res.* 1998;83:448–462.

172. Rosenblueth A, Ramos JG. Studies on flutter and fibrillation: II. The influence of artificial obstacles on experimental auricular flutter. *American Heart Journal* 1947;33:677–684.

173. Frame LH, Page RL, Hoffman BF. Atrial reentry around an anatomic barrier with a partially refractory excitable gap. A canine model of atrial flutter. *Circ. Res.* 1986;58:495–511.

174. Chan David P., Van Hare George F., Mackall Judith A., Carlson MD Mark D., Waldo Albert L. Importance of Atrial Flutter Isthmus in Postoperative Intra-Atrial Reentrant Tachycardia. *Circulation* 2000;102:1283–1289.

175. Boyden PA, Hoffman BF. The effects on atrial electrophysiology and structure of surgically induced right atrial enlargement in dogs. *Circ. Res.* 1981;49:1319–1331.

176. Tomita Yasushi, Matsuo Kunihiro, Sahadevan Jayakumar, Khrestian Celeen M., Waldo Albert L. Role of Functional Block Extension in Lesion-Related Atrial Flutter. *Circulation* 2001;103:1025–1030.

177. Allessie MA, Lammers WJ, Bonke IM, Hollen J. Intra-atrial reentry as a mechanism for atrial flutter induced by acetylcholine and rapid pacing in the dog. *Circulation* 1984;70:123–135.

178. Nattel S, Dobrev D. Electrophysiological and molecular mechanisms of paroxysmal atrial fibrillation. *Nature Reviews Cardiology* 2016;13:575–590.

179. Casaclang-Verzosa G, Gersh BJ, Tsang TSM. Structural and functional remodeling of the left atrium: clinical and therapeutic implications for atrial fibrillation.

- J. Am. Coll. Cardiol. 2008;51:1–11.
180. Pillarisetti J, Ray W, Lakkireddy D. Ectopic Triggers of Superior Vena Cava in Atrial Fibrillation. *J Atr Fibrillation* 2009;1. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5398783/>. Accessed May 22, 2019.
181. Rodríguez-Mañero M, Schurmann P, Valderrábano M. Ligament and Vein of Marshall. A therapeutic opportunity in atrial fibrillation. *Heart Rhythm* 2016;13:593–601.
182. Ortiz J, Niwano S, Abe H, Rudy Y, Johnson NJ, Waldo AL. Mapping the conversion of atrial flutter to atrial fibrillation and atrial fibrillation to atrial flutter. Insights into mechanisms. *Circ. Res.* 1994;74:882–894.
183. Waldo AL. Atrial fibrillation and atrial flutter: Two sides of the same coin! *Int. J. Cardiol.* 2017;240:251–252.
184. Shimizu A, Nozaki A, Rudy Y, Waldo AL. Onset of induced atrial flutter in the canine pericarditis model. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1991;17:1223–1234.
185. Waldo AL, Cooper TB. Spontaneous onset of type I atrial flutter in patients. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1996;28:707–712.
186. Nabar A, Rodriguez LM, Timmermans C, van Mechelen R, Wellens HJ. Class IC antiarrhythmic drug induced atrial flutter: electrocardiographic and electrophysiological findings and their importance for long term outcome after right atrial isthmus ablation. *Heart* 2001;85:424–429.
187. Murdock CJ, Kyles AE, Yeung-Lai-Wah JA, Qi A, Vorderbrugge S, Kerr CR. Atrial flutter in patients treated for atrial fibrillation with propafenone. *Am. J. Cardiol.* 1990;66:755–757.
188. Tai CT, Chiang CE, Lee SH, et al. Persistent atrial flutter in patients treated for atrial fibrillation with amiodarone and propafenone: electrophysiologic characteristics, radiofrequency catheter ablation, and risk prediction. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 1999;10:1180–1187.
189. Sparks PB, Jayaprakash S, Vohra JK, Kalman JM. Electrical remodeling of the atria associated with paroxysmal and chronic atrial flutter. *Circulation* 2000;102:1807–1813.
190. Morton JB, Byrne MJ, Power JM, Raman J, Kalman JM. Electrical remodeling of the atrium in an anatomic model of atrial flutter: relationship between substrate and triggers for conversion to atrial fibrillation. *Circulation* 2002;105:258–264.
191. Itoh T, Yamada T, Okumura K. Atrial fibrillation driven by scar-related atrial

flutter. *Europace* 2016;18:1718.

192. Mohanty S, Natale A, Mohanty P, et al. Pulmonary Vein Isolation to Reduce Future Risk of Atrial Fibrillation in Patients Undergoing Typical Flutter Ablation: Results from a Randomized Pilot Study (REDUCE AF). *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2015;26:819–825.

193. Navarrete A, Conte F, Moran M, Ali I, Milikan N. Ablation of atrial fibrillation at the time of cavotricuspid isthmus ablation in patients with atrial flutter without documented atrial fibrillation derives a better long-term benefit. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2011;22:34–38.

194. Gula LJ, Skanes AC, Klein GJ, et al. Atrial flutter and atrial fibrillation ablation - sequential or combined? A cost-benefit and risk analysis of primary prevention pulmonary vein ablation. *Heart Rhythm* 2016;13:1441–1448.

195. Anné W, Willems R, Van der Merwe N, Van de Werf F, Ector H, Heidbüchel H. Atrial fibrillation after radiofrequency ablation of atrial flutter: preventive effect of angiotensin converting enzyme inhibitors, angiotensin II receptor blockers, and diuretics. *Heart* 2004;90:1025–1030.

196. Narayan SM, Bode F, Karasik PL, Franz MR. Alternans of atrial action potentials during atrial flutter as a precursor to atrial fibrillation. *Circulation* 2002;106:1968–1973.

197. Joza J, Fillion KB, Eberg M, et al. Prognostic value of atrial fibrillation inducibility after right atrial flutter ablation. *Heart Rhythm* 2014;11:1870–1876.

198. Baszko A, Simon RD b, Rinaldi A, Gill JS. Occurrence of atrial fibrillation after flutter ablation: the significance of intra-atrial conduction and atrial vulnerability. *J Electrocardiol* 2003;36:219–225.

199. Schneider R, Lauschke J, Tischer T, et al. Pulmonary vein triggers play an important role in the initiation of atrial flutter: Initial results from the prospective randomized Atrial Fibrillation Ablation in Atrial Flutter (Triple A) trial. *Heart Rhythm* 2015;12:865–871.

200. Lee Park K, Anter E. Atrial Fibrillation and Heart Failure: A Review of the Intersection of Two Cardiac Epidemics. *J Atr Fibrillation* 2013;6. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5153058/>. Accessed May 25, 2019.

201. Carson PE, Johnson GR, Dunkman WB, Fletcher RD, Farrell L, Cohn JN. The influence of atrial fibrillation on prognosis in mild to moderate heart failure. The V-HeFT Studies. The V-HeFT VA Cooperative Studies Group. *Circulation*

1993;87:VI102-110.

202. Middlekauff HR, Stevenson WG, Stevenson LW. Prognostic significance of atrial fibrillation in advanced heart failure. A study of 390 patients. *Circulation* 1991;84:40–48.

203. Wang TJ, Larson MG, Levy D, et al. Temporal relations of atrial fibrillation and congestive heart failure and their joint influence on mortality: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2003;107:2920–2925.

204. Maisel WH, Stevenson LW. Atrial fibrillation in heart failure: epidemiology, pathophysiology, and rationale for therapy. *Am. J. Cardiol.* 2003;91:2D-8D.

205. Pozzoli M, Cioffi G, Traversi E, Pinna GD, Cobelli F, Tavazzi L. Predictors of primary atrial fibrillation and concomitant clinical and hemodynamic changes in patients with chronic heart failure: a prospective study in 344 patients with baseline sinus rhythm. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1998;32:197–204.

206. Gosselink AT, Crijns HJ, van den Berg MP, et al. Functional capacity before and after cardioversion of atrial fibrillation: a controlled study. *Br Heart J* 1994;72:161–166.

207. Raymond-Paquin A, Nattel S, Wakili R, Tadros R. Mechanisms and Clinical Significance of Arrhythmia-Induced Cardiomyopathy. *Can J Cardiol* 2018;34:1449–1460.

208. Lishmanov A, Chockalingam P, Senthilkumar A, Chockalingam A. Tachycardia-Induced Cardiomyopathy: Evaluation and Therapeutic Options. *Congestive Heart Failure* 2010;16:122–126.

209. Redfield MM, Kay GN, Jenkins LS, Mianulli M, Jensen DN, Ellenbogen KA. Tachycardia-related cardiomyopathy: a common cause of ventricular dysfunction in patients with atrial fibrillation referred for atrioventricular ablation. *Mayo Clin. Proc.* 2000;75:790–795.

210. Edner M, Caidahl K, Bergfeldt L, Darpö B, Edvardsson N, Rosenqvist M. Prospective study of left ventricular function after radiofrequency ablation of atrioventricular junction in patients with atrial fibrillation. *Br Heart J* 1995;74:261–267.

211. Donghua Z, Jian P, Zhongbo X, et al. Reversal of cardiomyopathy in patients with congestive heart failure secondary to tachycardia. *J Interv Card Electrophysiol* 2013;36:27–32; discussion 32.

212. Moe GW, Armstrong P. Pacing-induced heart failure: a model to study the mechanism of disease progression and novel therapy in heart failure. *Cardiovasc. Res.*

- 1999;42:591–599.
213. Cardin S, Pelletier P, Libby E, et al. Marked differences between atrial and ventricular gene-expression remodeling in dogs with experimental heart failure. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2008;45:821–831.
214. Anderson ME. Oxidant stress promotes disease by activating CaMKII. *J Mol Cell Cardiol* 2015;89:160–167.
215. Li D, Fareh S, Leung TK, Nattel S. Promotion of atrial fibrillation by heart failure in dogs: atrial remodeling of a different sort. *Circulation* 1999;100:87–95.
216. Shinagawa K, Shi Y-F, Tardif J-C, Leung T-K, Nattel S. Dynamic nature of atrial fibrillation substrate during development and reversal of heart failure in dogs. *Circulation* 2002;105:2672–2678.
217. Van Gelder IC, Groenveld HF, Crijns HJGM, et al. Lenient versus strict rate control in patients with atrial fibrillation. *N. Engl. J. Med.* 2010;362:1363–1373.
218. Brookes CI, White PA, Staples M, et al. Myocardial contractility is not constant during spontaneous atrial fibrillation in patients. *Circulation* 1998;98:1762–1768.
219. Clark DM, Plumb VJ, Epstein AE, Kay GN. Hemodynamic effects of an irregular sequence of ventricular cycle lengths during atrial fibrillation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1997;30:1039–1045.
220. Park Y, Kim S, Shin J, et al. Frequent premature ventricular complex is associated with left atrial enlargement in patients with normal left ventricular ejection fraction. *Pacing Clin Electrophysiol* 2014;37:1455–1461.
221. Barutçu A, Temiz A, Bekler A, et al. Arrhythmia risk assessment using heart rate variability parameters in patients with frequent ventricular ectopic beats without structural heart disease. *Pacing Clin Electrophysiol* 2014;37:1448–1454.
222. Jiang M, Zhang M, Howren M, et al. JPH-2 interacts with Cai-handling proteins and ion channels in dyads: Contribution to premature ventricular contraction-induced cardiomyopathy. *Heart Rhythm* 2016;13:743–752.
223. Wang Y, Eltit JM, Kaszala K, et al. Cellular mechanism of premature ventricular contraction-induced cardiomyopathy. *Heart Rhythm* 2014;11:2064–2072.
224. Kharche SR, Stary T, Colman MA, et al. Effects of human atrial ionic remodeling by β -blocker therapy on mechanisms of atrial fibrillation: a computer simulation. *Europace* 2014;16:1524–1533.
225. Duytschaever MF, Garratt CJ, Allessie MA. Profibrillatory effects of verapamil but not of digoxin in the goat model of atrial fibrillation. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*

2000;11:1375–1385.

226. Tieleman RG, Blaauw Y, Van Gelder IC, et al. Digoxin delays recovery from tachycardia-induced electrical remodeling of the atria. *Circulation* 1999;100:1836–1842.

227. Saigusa M. Artificial cardiac pacemaker. Six years experiences with cardiac pacemaking for heart block. *Jpn. Circ. J.* 1969;33:1583–1586.

228. Larsson B, Elmqvist H, Rydén L, Schüller H. Lessons from the first patient with an implanted pacemaker: 1958-2001. *Pacing Clin Electrophysiol* 2003;26:114–124.

229. Stangl K, Seitz K, Wirtzfeld A, Alt E, Blömer H. Differences between atrial single chamber pacing (AAI) and ventricular single chamber pacing (VVI) with respect to prognosis and antiarrhythmic effect in patients with sick sinus syndrome. *Pacing Clin Electrophysiol* 1990;13:2080–2085.

230. Sweeney MO, Hellkamp AS, Ellenbogen KA, et al. Adverse effect of ventricular pacing on heart failure and atrial fibrillation among patients with normal baseline QRS duration in a clinical trial of pacemaker therapy for sinus node dysfunction. *Circulation* 2003;107:2932–2937.

231. Veasey RA, Arya A, Silberbauer J, et al. The relationship between right ventricular pacing and atrial fibrillation burden and disease progression in patients with paroxysmal atrial fibrillation: the long-MinVPACE study. *Europace* 2011;13:815–820.

232. Gillis AM, Pürerfellner H, Israel CW, et al. Reducing unnecessary right ventricular pacing with the managed ventricular pacing mode in patients with sinus node disease and AV block. *Pacing Clin Electrophysiol* 2006;29:697–705.

233. Boriani G, Tukkie R, Biffi M, et al. Atrial antitachycardia pacing and atrial remodeling: A substudy of the international, randomized MINERVA trial. *Heart Rhythm* 2017;14:1476–1484.

234. Xie J-M, Fang F, Zhang Q, et al. Left atrial remodeling and reduced atrial pump function after chronic right ventricular apical pacing in patients with preserved ejection fraction. *Int. J. Cardiol.* 2012;157:364–369.

235. Ausubel K, Furman S. The pacemaker syndrome. *Ann. Intern. Med.* 1985;103:420–429.

236. Farmer DM, Estes NAM, Link MS. New concepts in pacemaker syndrome. *Indian Pacing Electrophysiol J* 2004;4:195–200.

237. Israel CW. The role of pacing mode in the development of atrial fibrillation. *Europace* 2006;8:89–95.

238. Cabello JB, Bordes P, Mauri M, Valle M, Quiles JA. Acute and chronic changes in atrial natriuretic factor induced by ventricular pacing: a self controlled clinical trial. *Pacing Clin Electrophysiol* 1996;19:815–821.
239. De Jong AM, Maass AH, Oberdorf-Maass SU, Van Veldhuisen DJ, Van Gilst WH, Van Gelder IC. Mechanisms of atrial structural changes caused by stretch occurring before and during early atrial fibrillation. *Cardiovasc. Res.* 2011;89:754–765.
240. Sparks PB, Mond HG, Vohra JK, Jayaprakash S, Kalman JM. Electrical remodeling of the atria following loss of atrioventricular synchrony: a long-term study in humans. *Circulation* 1999;100:1894–1900.
241. Mond HG, Vohra JK, Yapanis AG, Grigg LE, Kalman JM. Mechanical remodeling of the left atrium after loss of atrioventricular synchrony. A long-term study in humans. *Circulation* 1999;100:1714–1721.
242. Neuberger H-R, Schotten U, Verheule S, et al. Development of a substrate of atrial fibrillation during chronic atrioventricular block in the goat. *Circulation* 2005;111:30–37.
243. Greiser M, Neuberger H-R, Harks E, et al. Distinct contractile and molecular differences between two goat models of atrial dysfunction: AV block-induced atrial dilatation and atrial fibrillation. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2009;46:385–394.
244. Lister JW, Klotz DH, Jomain SL, Stuckey JH, Hoffman BF. EFFECT OF PACEMAKER SITE ON CARDIAC OUTPUT AND VENTRICULAR ACTIVATION IN DOGS WITH COMPLETE HEART BLOCK. *Am. J. Cardiol.* 1964;14:494–503.
245. Mark JB, Chetham PM. Ventricular pacing can induce hemodynamically significant mitral valve regurgitation. *Anesthesiology* 1991;74:375–377.
246. Rosenqvist M, Isaaz K, Botvinick EH, et al. Relative importance of activation sequence compared to atrioventricular synchrony in left ventricular function. *Am. J. Cardiol.* 1991;67:148–156.
247. Grines CL, Bashore TM, Boudoulas H, Olson S, Shafer P, Wooley CF. Functional abnormalities in isolated left bundle branch block. The effect of interventricular asynchrony. *Circulation* 1989;79:845–853.
248. Lubitz SA, Benjamin EJ, Ellinor PT. Atrial Fibrillation in Congestive Heart Failure. *Heart Fail Clin* 2010;6:187–200.
249. Owen CH, Esposito DJ, Davis JW, Glower DD. The Effects of Ventricular Pacing on Left Ventricular Geometry, Function, Myocardial Oxygen Consumption, and

Efficiency of Contraction in Conscious Dogs. *Pacing and Clinical Electrophysiology* 21:1417–1429.

250. Avitall B, Bi J, Mykytsey A, Chicco A. Atrial and ventricular fibrosis induced by atrial fibrillation: evidence to support early rhythm control. *Heart Rhythm* 2008;5:839–845.

251. Dzeshka MS, Lip GYH, Snezhitskiy V, Shantsila E. Cardiac Fibrosis in Patients With Atrial Fibrillation: Mechanisms and Clinical Implications. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2015;66:943–959.

252. Van Gelder IC, Groenveld HF, Crijns HJGM, et al. Lenient versus strict rate control in patients with atrial fibrillation. *N. Engl. J. Med.* 2010;362:1363–1373.

253. Van Gelder IC, Van Veldhuisen DJ, Crijns HJGM, et al. RAte Control Efficacy in permanent atrial fibrillation: a comparison between lenient versus strict rate control in patients with and without heart failure. Background, aims, and design of RACE II. *Am. Heart J.* 2006;152:420–426.

254. Van Gelder IC, Wyse DG, Chandler ML, et al. Does intensity of rate-control influence outcome in atrial fibrillation? An analysis of pooled data from the RACE and AFFIRM studies. *Europace* 2006;8:935–942.

255. Yamada Y, Kinoshita H, Kuwahara K, et al. Inhibition of N-type Ca²⁺ channels ameliorates an imbalance in cardiac autonomic nerve activity and prevents lethal arrhythmias in mice with heart failure. *Cardiovasc. Res.* 2014;104:183–193.

256. Fujita T, Ando K, Nishimura H, et al. Antiproteinuric effect of the calcium channel blocker cilnidipine added to renin-angiotensin inhibition in hypertensive patients with chronic renal disease. *Kidney Int.* 2007;72:1543–1549.

257. Tan AY, Zhou S, Ogawa M, et al. Neural mechanisms of paroxysmal atrial fibrillation and paroxysmal atrial tachycardia in ambulatory canines. *Circulation* 2008;118:916–925.

258. Kusunose K, Zhang Y, Mazgalev TN, Van Wagoner DR, Thomas JD, Popović ZB. Impact of vagal nerve stimulation on left atrial structure and function in a canine high-rate pacing model. *Circ Heart Fail* 2014;7:320–326.

259. Linz D, Hohl M, Khoshkish S, et al. Low-Level But Not High-Level Baroreceptor Stimulation Inhibits Atrial Fibrillation in a Pig Model of Sleep Apnea. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2016;27:1086–1092.

260. Linz D, Ukena C, Mahfoud F, Neuberger H-R, Böhm M. Atrial autonomic innervation: a target for interventional antiarrhythmic therapy? *J. Am. Coll. Cardiol.*

2014;63:215–224.

261. Katritsis D, Iliodromitis E, Fragakis N, Adamopoulos S, Kremastinos D. Ablation therapy of type I atrial flutter may eradicate paroxysmal atrial fibrillation. *Am. J. Cardiol.* 1996;78:345–347.

262. Köhlkamp V, Schirdewan A, Stangl K, Homberg M, Ploch M, Beck OA. Use of metoprolol CR/XL to maintain sinus rhythm after conversion from persistent atrial fibrillation: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000;36:139–146.

263. Machida T, Hashimoto N, Kuwahara I, et al. Effects of a highly selective acetylcholine-activated K⁺ channel blocker on experimental atrial fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2011;4:94–102.

264. Akel T, Lafferty J. Efficacy and safety of intravenous vernakalant for the rapid conversion of recent-onset atrial fibrillation: A meta-analysis. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2018;23:e12508.