

Université de Montréal

Étude de l'aggravation du remodelage auriculaire droit, de l'induction d'une ligature du tronc
pulmonaire à la mise en place du substrat arythmogène

Par

Charles-Alexandre LeBlanc

Université de Montréal

Faculté de médecine

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de Maîtrise
en Sciences biomédicales, option Sciences cardiovasculaires

Mars 2024

© Charles-Alexandre LeBlanc, 2024 (dépôt Papyrus)

Université de Montréal

Université de Montréal, Faculté de médecine

Ce mémoire intitulé

Étude de l'aggravation du remodelage auriculaire droit, de l'induction d'une ligature du tronc pulmonaire à la mise en place du substrat arythmogène

Présenté par

Charles-Alexandre LeBlanc

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Dr. Matthieu Ruiz, Ph.D.

Président-rapporteur

Dr. Roddy Hiram, Ph.D.

Directeur de recherche

Dr. Pedro D'Orléans-Juste, Ph.D.

Membre du jury

Résumé

La fibrillation auriculaire (FA) est l'arythmie cardiaque la plus répandue. Les maladies du cœur droit (MCD), caractérisées par une hypertrophie et une inflammation myocardique augmentent le risque de FA. La relation tri-factorielle unissant les MCD, l'inflammation et la FA demeure peu décrite. L'hypothèse était qu'une constriction du tronc pulmonaire entraînerait une MCD induisant une inflammation auriculaire et une augmentation du risque de FA.

Une ligature du tronc pulmonaire (LTP) fut réalisée chirurgicalement sur des rats Wistar mâles pour mimer une augmentation chronique de la post-charge du ventricule droit. Des rats Sham ont eu une chirurgie sans ligature. Tous les rats ont eu une échocardiographie puis une étude électrophysiologique pour évaluer leur vulnérabilité à la FA avant d'être sacrifiés aux jours 0, 7, 14 et 21 post-chirurgie. Leurs tissus auriculaires ont servi pour la cartographie optique de leur oreillette droite (OD), l'histologie, mais aussi pour la RPCq et l'immunobuvardage de type Western afin de quantifier des marqueurs inflammatoires/fibrotiques/sénescents et des canaux ioniques.

Une hypertrophie et dilatation du cœur droit des rats LTP furent observées. Dès le 7^e jour, les rats LTP avaient une vitesse de conduction électrique réduite dans leur OD et étaient vulnérables à la FA. De la fibrose s'était accumulée dans l'OD, coïncidant avec une élévation de l'expression de gènes pro-inflammatoires (*Nlrp3*) et pro-fibrotiques (*Tgfβ1*) ainsi qu'une diminution de la protéine SERCA2a.

Cette étude a démontré qu'une MCD provoque une augmentation de l'inflammation et de la fibrose auriculaire droite associée à une croissance du risque de FA.

Mots-clés : Fibrillation auriculaire, Inflammation, Fibrose, Maladie du cœur droit, Électrophysiologie

Abstract

Atrial fibrillation (AF) is the most common cardiac arrhythmia. Right heart diseases (RHD), which are characterized by hypertrophy and myocardial inflammation can also increase the risk of AF. The tri-factorial relationship that exists between RHD, inflammation and AF remains poorly described. We hypothesized that a permanent constriction of the pulmonary trunk would provoke a severe RHD associated with atrial inflammation and an enhanced AF vulnerability.

A pulmonary artery trunk banding (PAB) was surgically performed on male Wistar rats to mimic a chronic increase in right ventricular afterload. Sham rats had surgery without ligation. All rats underwent echocardiography and electrophysiological studies to measure their AF vulnerability before being euthanized on days 0, 7, 14 and 21 post-surgery. Their atrial tissues were used for the optical mapping of their right atrium, histology, but also qPCR and Western immunoblotting in order to quantify inflammatory/fibrotic/senescent markers and ionic channels.

PAB provoked the hypertrophy and dilation of the right heart. Starting at day 7, conduction velocity was significantly reduced in PAB rats compared to Sham. The right atrium (RA) dimension, RA fibrosis and AF vulnerability were significantly increased in PAB rats compared to Sham. The expression of pro-inflammatory (*Nlrp3*) and pro-fibrotic (*Tgf β 1*) genes was increased, and the levels of the SERCA2a protein were decreased in PAB rats compared to Sham.

Our study demonstrated that a RHD in rats can induce an increase in RA inflammation and fibrosis, which are associated with an increased risk of AF.

Keywords: Atrial fibrillation, Inflammation, Fibrosis, Right heart disease, Electrophysiology

Table des matières

Résumé.....	3
Abstract	4
Table des matières	5
Liste des tableaux.....	11
Liste des figures.....	12
Liste des sigles et abréviations.....	13
Remerciements	18
Chapitre 1 - Introduction.....	20
1.1 Contexte	20
1.1.1 La fibrillation auriculaire	20
1.1.2 En quoi consiste la FA ?.....	21
1.1.3 Les maladies du cœur droit.....	23
1.1.4 Impacts sur l'oreillette droite lors de MCD.....	25
1.1.5 Les MCD et les arythmies auriculaires	25
1.1.6 L'inflammation : dénominateur commun entre la MCD et la FA ?.....	27
1.1.7 Fibrose cardiaque : Une conséquence de l'inflammation	31
1.1.8 Sénescence cellulaire et inflammation	33
1.1.9 But de l'étude.....	35
Chapitre 2 – Matériel et méthodes.....	37
2.1 Chronologie du projet	37
2.1.1 Ligature partielle du tronc pulmonaire artériel	37
2.1.2 Échocardiographie.....	39

2.1.3 Études électrophysiologiques	41
2.1.4 Cartographie optique	43
2.1.5 Histologie.....	44
2.1.6 RPC quantitative.....	46
2.1.7 Immunobuvardage de type Western (Western Blot)	50
2.1.8 Analyses statistiques	52
Chapitre 3 – Résultats	54
3.1 Validation du modèle LTP au niveau fonctionnel	54
3.1.1 Impacts de la ligature sur le tronc pulmonaire	54
3.1.2 Changements structurels et fonctionnels du côté gauche du cœur.....	56
3.1.3 Changements structurels et fonctionnels du cœur droit.....	58
3.1.4 Apparition de régurgitations de la valve tricuspide.....	60
3.2 Remodelage inflammatoire.....	63
3.2.1 Élévation modeste de l’expression génique de marqueurs inflammatoires	63
3.2.2 Niveaux d’expression stables d’une protéine pro-inflammatoire	66
3.3 Remodelage structurel et fibrotique.....	68
3.3.1 Évolution du tissu fibrotique cardiaque chez les rats LTP	68
3.3.2 Expression accrue de gènes pro-fibrotiques au niveau auriculaire droit chez les rats LTP	70
3.3.3 Variations des niveaux de protéines impliquées dans la fibrose au niveau de l’oreillette droite chez les rats LTP.....	72
3.4 Activation de l’expression de gènes contribuant à l’état sénescence	74
3.5 Phénomènes arythmiques	76
3.5.1 Mesure de différents paramètres de l’ECG.....	76

3.5.2 Vulnérabilité croissante dans le temps au déclenchement d'arythmies auriculaires	76
3.5.3 Mise en place d'un profil pro-arythmique observable par cartographie optique de l'oreillette droite	80
3.5.4 Fluctuations des niveaux d'expression de gènes liés aux canaux ioniques ainsi qu'à la machinerie calcique intracellulaire	85
3.5.5 Réduction du taux de protéines de la machinerie calcique dans l'oreillette droite chez les rats LTP	88
Chapitre 4 – Discussion	90
4.1 Principales découvertes	90
4.2 Mécanismes et processus menant à l'apparition de la FA	94
4.2.1 Morphologie du cœur droit	94
4.2.2 Inflammation dans les oreillettes	96
4.2.3 La fibrose en réponse à la pression	98
4.2.3.1 Différenciation des fibroblastes	98
4.2.3.2 Gènes et protéines caractéristiques de la fibrose cardiaque	101
4.2.4 Remodelage électrophysiologique	102
4.2.4.1 Canaux ioniques régulateurs du potentiel d'action	104
4.2.4.2 Machinerie calcique des cardiomyocytes	108
4.2.4.3 Susceptibilité aux épisodes arythmiques auriculaires	110
4.2.4.4 Paramètres électrophysiologiques <i>ex vivo</i>	112
4.2.5 Processus de sénescence dans un tissu cardiaque	113
4.3 Résumé et avancements des approches thérapeutiques	115
4.3.1 Traitements de pathologies cardiaques droites	115
4.3.1.1 Correction des cardiopathies congénitales	115
4.3.1.2 Gestion de maladies pulmonaires	115

4.3.2 Gestion de la FA.....	117
4.3.2.1 Antiarythmiques.....	117
4.3.2.2 Anticoagulants.....	117
4.3.2.3 Ablation par cathéter	119
4.3.2.4 Bloqueurs de canaux ioniques	119
4.3.3 Thérapies basées sur le contrôle de l’inflammation et de la fibrose.....	120
4.4 Limitations de l’étude.....	120
4.4.1 Considération des variabilités liées au sexe biologique.....	120
4.4.2 Évaluation détaillée des paramètres hémodynamiques	122
4.4.3 Retrait de la ligature du tronc pulmonaire artériel.....	122
4.4.4 Étude des connexines et de protéines inflammatoires supplémentaires	123
Chapitre 5 – Conclusion.....	124
Références bibliographiques.....	126
Annexes	149
Annexe 5 - Inflammation et fibrose : Revue littéraire	153
Accord des coauteurs	153
Evidence of Failed Resolution Mechanisms in Arrhythmogenic Inflammation, Fibrosis and Right Heart Disease	154
Abstract	155
1. Introduction.....	156
2. Biomolecular Paradigm of Active Resolution Mechanisms in the Heart	160
2.1. Initiation Phase of Inflammation: Central Regulatory Role of Arachidonic Acid	160
2.1.1. <i>Arachidonic Acid Metabolism by Cytochrome P450</i>	160
2.1.2. <i>Arachidonic Acid Metabolism by COX1 and COX2</i>	160

2.1.3. <i>Arachid Acid Metabolism by 5-LOX</i>	161
2.2 Lipid-Mediator Class Switching: Transition from Pro-Inflammatory to Pro-Resolution Signals.....	162
2.3 Resolution of Inflammation: SPMs-Mediated Efferocytosis and Homeostasis	163
2.3.1. <i>EPA-Derived Specialized Pro-Resolving Mediators</i>	163
2.3.2. <i>DHA-Derived Specialized Pro-Resolving Mediators</i>	164
2.3.3. <i>Arachidonic Acid-Derived Specialized Pro-Resolving Mediators</i>	166
2.4. ‘Failed Resolution Mechanisms’ in the Development of Chronic Inflammation and Heart Diseases.....	166
3. Description of ‘Failed Resolution Mechanisms’ in Cardiac Arrhythmogenic Remodeling...168	
3.1. FRM Associated with Cardiac Electrical Conduction Abnormalities	168
3.2. FRM Associated with Cardiac ECM’s Arrhythmogenic Structural Remodeling.....	170
3.3. FRM Associated with Abnormal Cardiac Fibroblasts’ Remodeling and Atrial Fibrosis	171
3.3.1. <i>Fibroblast Response to Inflammation Initiation</i>	172
3.3.2. <i>FB-Induced Expression of Key FRM-Promoting Biomarkers</i>	172
4. Arrhythmogenic FRM in the Context of Right Heart Disease	177
4.1. Generalities on RHD-Induced Arrhythmogenicity.....	177
4.2 Resolution-Promoting Strategies in Monocrotaline and Sugden-Hypoxia Models of RHD and FRM Associated with Cardiac Arrhythmias	178
5. Conclusions.....	181
6. Highlights.....	182
Author Contributions	182
Funding.....	182
Acknowledgments.....	182

Conflicts of Interest	182
Abbreviations	182
References.....	184

Liste des tableaux

Tableau 1	Amorces SYBR Green utilisées durant la RPCq pour chaque gène étudié	49
Tableau 2	Caractérisation des régurgitations tricuspidiennes	62

Liste des figures

Figure 1	Voies de signalisation moléculaires impliquées dans l'inflammation	30
Figure 2	Ligature partielle du tronc pulmonaire et ses effets hémodynamiques	55
Figure 3	Paramètres morphologiques et fonctionnels du cœur gauche	57
Figure 4	Paramètres morphologiques et fonctionnels du cœur droit.....	59
Figure 5	Régurgitation de la valve tricuspide lors d'une MCD	61
Figure 6	Expression de marqueurs associés aux processus inflammatoires	65
Figure 7	Expression de la protéine IL-1 β	67
Figure 8	Progression et quantification de la fibrose auriculaire gauche et droite	69
Figure 9	Expression de marqueurs associés à la fibrose	71
Figure 10	Expression de protéines associées à la fibrose	73
Figure 11	Expression de marqueurs associés à la sénescence cellulaire	75
Figure 12	Fréquence cardiaque et ondes mesurées sur l'électrocardiogramme (ECG)	78
Figure 13	Étude électrophysiologique et susceptibilité aux arythmies auriculaires	79
Figure 14	Propagation électrique dans l'oreillette droite.....	81
Figure 15	Transmission électrique dans l'oreillette droite	83
Figure 16	Fibrillations auriculaires et prédisposition <i>ex vivo</i>	84
Figure 17	Expression de marqueurs associés à la synthèse de canaux ioniques.....	87
Figure 18	Expression de protéines associées à la machinerie calcique	89
Figure 19	Évolution du profil inflammatoire, fibrotique et électrique des rats LTP	93
Figure 20	Impacts structuraux et tissulaires de la chirurgie LTP.....	99
Figure 21	Potentiels d'action de cardiomyocytes auriculaires et de cellules pacemaker .	106

Liste des sigles et abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

AMPc : Adénosine monophosphate cyclique

AML- α : Actine des muscles lisses alpha

ANGII : Angiotensine II

AODd : Aire de l'oreillette droite en fin de diastole

AODs : Aire de l'oreillette droite en fin de systole

ARE : Antagonistes des récepteurs de l'endothéline

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : Acide ribonucléique messenger

ASC : Protéine adaptatrice apoptotique contenant un domaine de liaison à la caspase

ATP : Adénosine triphosphate

ATR : Récepteur à l'angiotensine II

AVC : Accidents vasculaires cérébraux

CaMKII δ : Protéine kinase Ca²⁺/calmoduline-dépendante delta

CDKN1A : Inhibiteur de kinase dépendante des cyclines 1

CDKN2A : Inhibiteur de kinase dépendante des cyclines 2

CM : Cardiomyocytes

CTA : Constriction trans-aortique

Cx : Connexines

CXCL1 : Ligand de motif C-X-C de la chimiokine-1

DCB : Durée du cycle de base

DODs : Dimension de l'oreillette droite en fin de systole

DOGd : Dimension de l'oreillette gauche en fin de diastole

DOGs : Dimension de l'oreillette gauche en fin de systole

DPA80 : Durée du potentiel d'action à 80% de repolarisation

DRO : Dérivés réactifs de l'oxygène

DVGd : Dimension du ventricule gauche en fin de diastole

DVGs : Dimension du ventricule gauche en fin de systole

DVDd : Dimension du ventricule droit en fin de diastole

ECG : Électrocardiogramme

ÉPAVGd : Épaisseur de la paroi antérieure du ventricule gauche en fin de diastole

ÉPAVDd : Épaisseur de la paroi antérieure du ventricule droit en fin de diastole

ESPAT : Excursion systolique du plan annulaire tricuspide

FA : Fibrillation auriculaire

FB : Fibroblastes

FE : Fraction d'éjection

FIA : Flutter auriculaire

GSDMD : Gasdermine D

HTAP : Hypertension artérielle pulmonaire

HTP : Hypertension pulmonaire

HTPCT : Hypertension pulmonaire chronique thromboembolique

IC : Insuffisance cardiaque

IL-1 β : Interleukine-1 bêta

IL-1R : Récepteur à l'interleukine 1 bêta

IL-6 : Interleukine-6

IL-10 : Interleukine-10

IL-18 : Interleukine-18

IM : Infarctus du myocarde

IMC : Indice de masse corporelle

ICrFE : Insuffisance cardiaque avec réduction de la fraction d'éjection

LTP : Ligature du tronc artériel pulmonaire

MCD : Maladie du cœur droit/Maladie cardiaque droite

MCT : Monocrotaline

MEC : Matrice extracellulaire

MMAD : Motifs moléculaires associés aux dégâts

MMAP : Motifs moléculaires associés aux pathogènes

MPOC : Maladie pulmonaire obstructive chronique

NAV : Nœud atrio-ventriculaire

NF κ B : Facteur Nucléaire kappa B

NLRP3 : Protéine contenant un domaine pyrine du récepteur de type NOD 3

NS : Nœud sinusal/sino-auriculaire

OC : Ondes continues

OD : Oreillette droite

OG : Oreillette gauche

OP : Ondes pulsées

PA : Potentiel d'action

PAR4 : Récepteur activé par les protéases 4

PDP : Post-dépolarisation précoce

PDR : Post-dépolarisation retardée

PKA : Protéine kinase A

PLB : Phospholambane

PRE : Période réfractaire effective

RE : Récepteur de l'estradiol

RF : Raccourcissement fractionnaire

RPCq : Réaction de polymérisation en chaîne quantitative

RS : Réticulum sarcoplasmique

RYR2 : Récepteur à la ryanodine 2

SERCA2a : ATPase du réticulum sarcoplasmique de type 2A

SRAA : Système-Rénine-Angiotensine-Aldostérone

SP : Sténose pulmonaire

Td : Taux de déformation

TECP : Test d'exercice cardiopulmonaire

TF : Tétralogie de Fallot

TGF- β : Facteur de croissance transformant bêta

TLR : Récepteur aux protéines Toll-like

TNF- α : Facteur de nécrose tumorale alpha

TNFR : Récepteur aux facteurs de nécrose tumorale

TSVG : Tractus de sortie du ventricule gauche

VD : Ventricule droit

VG : Ventricule gauche

Remerciements

Au terme de cette aventure que furent mon projet de recherche et la rédaction de mon mémoire de maîtrise, je souhaite honorer et remercier les personnes qui m'ont aidé et soutenu durant les deux dernières années.

Tout d'abord, je veux souligner le travail du personnel de l'animalerie du centre de recherche de l'ICM pour leur suivi des animaux. Également, une mention spéciale à Marie-Ève Higgins qui m'a partagé son expertise et ses connaissances en microchirurgie dès le début du projet.

Je tiens à signifier ma reconnaissance à l'équipe d'échocardiographie du laboratoire du Dr. Jean-Claude Tardif pour leur excellent travail tout au long de notre projet et leur disponibilité quand nous avons des questions. Également, j'offre mes remerciements au personnel du laboratoire du Dr. Stanley Nattel. Plus précisément, à Dr. Feng Xiong pour la cartographie optique, à Dr. Patrice Naud pour la RPCq, Dre. Jiening Xiao pour l'immunobuvardage ainsi qu'à Chantal St-Cyr pour sa contribution à la logistique du projet.

Pour son rôle de parrain de maîtrise et ses réflexions enrichissantes, je veux exprimer ma gratitude au Dr. Martin Sirois.

Évidemment, je suis très reconnaissant envers mon directeur de recherche, Dr. Roddy Hiram, pour sa confiance, ses conseils, ses challenges et son optimisme légendaire.

Un merci tout particulier à mon frère français, Ewen Le Quilliec, pour son aide gigantesque, et son sens de l'humour très appréciable ainsi qu'à Yasemin Altuntas pour sa collaboration et son temps pour me former et me guider au début du projet.

Merci infiniment à Jennifer, ma meilleure amie et compagne de tous les jours. Ton support inconditionnel, ton réconfort, tes beaux schémas et tes encouragements m'ont permis d'accomplir quelque chose dont je suis très fier aujourd'hui. Être tous les deux en rédactions en simultané, ce n'était pas simple, mais on a fini par finir.

Enfin, à mes parents et à ma sœur, je vous remercie pour vos encouragements à travers tout mon parcours académique. Vous m'avez toujours donné les outils et les ressources nécessaires pour accomplir mes objectifs, peu importe la situation. Merci.

Chapitre 1 - Introduction

1.1 Contexte

1.1.1 La fibrillation auriculaire

Parmi les diverses formes d'arythmies cardiaques documentées, la fibrillation auriculaire, ou FA, est celle qui est la plus fréquemment diagnostiquée en clinique (Calvo et al., 2018). La FA représente un enjeu majeur de santé publique ayant un impact sur la qualité de vie d'une multitude de patients et engendre également d'importants coûts que doivent assumer les systèmes de santé (Okutucu & Gorenec, 2022).

En termes de statistiques, les dernières données obtenues par la Canadian Cardiovascular Society ainsi que la Canadian Heart Rhythm Society en 2020 indiquent que de 1 à 2% de la population canadienne (près de 800 000 personnes) est concernée par la FA (Andrade et al., 2020). L'âge est un facteur de risque majeur puisque le taux de patients affectés par cette condition peut augmenter au-delà de 4% parmi ceux étant âgés de plus de 65 ans (Andrade et al., 2020). Pour les octogénaires, cette proportion peut même dépasser le seuil des 10% (Sagris et al., 2021).

Dans une population canadienne de plus en plus vieillissante, le nombre de chirurgies de natures cardiovasculaires, d'hospitalisations (d'urgence ou non), de décès, ainsi que les coûts reliés à la FA de manière générale augmenteront sans aucun doute de manière exponentielle au courant de la prochaine décennie (Andrade et al., 2020). À un tel rythme, les dépenses annuelles se compteront bientôt en milliards de dollars canadiens. En 2020, ils étaient déjà estimés à 956 millions de dollars (Andrade et al., 2020). À l'échelle mondiale, l'incidence de FA se chiffrait à environ 0,4% (33 millions d'individus) en 2020. Durant cette même année, on comptait également plus de 3 millions d'Américains atteints (Chung et al., 2020).

En ce qui a trait aux différences intersexuelles au sein d'une population, on sait que les risques de complications létales associées ainsi que les réactions aux différents traitements existants (médicaments antiarythmiques/anticoagulants, ablation des veines pulmonaires, etc.) peuvent varier significativement entre les hommes et les femmes (Westerman & Wenger, 2019). Dans le

cadre de l'étude ARIC (Atherosclerosis Risk In Communities) regroupant plus de 15 000 participants, âgés de 45 à 64 ans, suivis pendant 21 ans et sans FA au départ, les femmes ont présenté un risque inférieur aux hommes (36 vs 30%) de développer de la FA, mais un risque d'accident vasculaire cérébral (AVC) supérieur lorsque la FA est traitée à la warfarine, un anticoagulant. (Mou et al., 2018; Westerman & Wenger, 2019). Une relation similaire fut observée en comparant la fréquence des hommes et des femmes Afro-américains avec celle mesurée des Caucasiens-américains (Westerman & Wenger, 2019). Les données recueillies durant l'ARIC suggèrent donc que la FA atteindrait différemment plusieurs strates des sociétés, particulièrement occidentales, en fonction notamment du sexe et de la race, en plus de l'âge et des habitudes de vie néfastes qui favorisent également son apparition.

1.1.2 En quoi consiste la FA ?

La FA est une forme d'arythmie cardiaque qu'on qualifie de supraventriculaire en raison de sa localisation au niveau des oreillettes du cœur (DeSimone et al., 2018). Lorsqu'elle se manifeste, les contractions normalement synchronisées des cardiomyocytes (CM) auriculaires sont désormais totalement désorganisées et ne permettent plus d'éjecter le sang dans le ventricule de manière efficace (L. Thomas, 2003). Sur un électrocardiogramme (ECG) conventionnel, ce phénomène se traduit principalement par une disparition de l'onde P associée à la dépolarisation des oreillettes en plus d'un rythme cardiaque irrégulier et ultra-rapide. Ce sont des modifications de réseaux électriques déjà en place dans le tissu auriculaire cardiaque telles que la formation de bloc de conduction, d'un foyer ectopique ou de circuits de réentrée qui sont à l'origine de la fibrillation observée (Gutierrez & Blanchard, 2016). L'apparition de FA peut dépendre d'une multitude de facteurs, mais la fibrose découlant de divers processus inflammatoires a un rôle primordial dans le développement des arythmies auriculaires (Sohns & Marrouche, 2020). Des expériences de « pacing » menées sur des oreillettes de chiens ainsi que sur des CM ont d'ailleurs permises d'observer une hausse du taux de divers marqueurs inflammatoires tels qu'IL-6 et NLRP3, respectivement, supposant que le déclenchement de l'inflammation pourrait découler de la FA (Ihara & Sasano, 2022). Ces résultats suggèrent donc que le déclenchement d'inflammation

peut être causé par la FA elle-même et donc entretenir l'état de vulnérabilité aux arythmies auriculaires (Beyer et al., 2021; Ihara & Sasano, 2022). L'hypothèse du cercle vicieux inflammation-FA demeure cependant peu décrite dans la littérature actuelle. En plus de l'inflammation, des données récentes obtenues via angiographie par tomodensitométrie sur des patients ayant une FA d'origine non-valvulaire supportent l'idée selon laquelle le remodelage structurel d'une oreillette peut augmenter la vulnérabilité aux épisodes de FA (Beyer et al., 2021).

Cette forme d'arythmie est à l'origine de diverses complications pouvant potentiellement être létales (Alonso & Norby, 2016). Parmi celles-ci, la FA est notamment associée à la formation de caillots sanguins dans les oreillettes en raison des perturbations hémodynamiques et de la stagnation de sang du fait des anomalies de contractilité accompagnant la coagulation sanguine (Kapłon-Cieślicka et al., 2019). Une fois libérés dans la circulation, les caillots sanguins peuvent occasionner des accidents vasculaires cérébraux (AVC), l'obstruction de vaisseaux coronariens causant ainsi un infarctus du myocarde (IM), ou même la mort subite (Migdady et al., 2021; Palasubramaniam et al., 2019; Richardson et al., 2021). C'est pour cette raison que l'utilisation d'anticoagulants est régulièrement prescrite chez les patients souffrant de FA (Jame & Barnes, 2020). Une autre conséquence possible est l'insuffisance cardiaque (IC). La désorganisation des signaux électriques lors des épisodes de FA en plus de l'inflammation ou du remodelage auriculaire structurel qui peuvent l'accompagner vont exercer un effet inotrope négatif sur le cœur et donc diminuer sa faculté à répondre aux besoins de l'organisme (Carlisle et al., 2019).

Plusieurs conditions pathologiques ou habitudes de vie néfastes peuvent prédisposer un individu à développer de la FA durant sa vie (Chung et al., 2020; Kornej et al., 2020). En plus du vieillissement mentionné précédemment, on retrouve notamment la sédentarité (Skjelboe et al., 2017), le tabagisme (I. Watanabe, 2018), le stress (Severino et al., 2019), l'obésité (Middeldorp et al., 2023), le diabète (A. Wang et al., 2019), l'hypertension systémique (Seccia et al., 2019) ou pulmonaire (Wanamaker et al., 2018), l'apnée du sommeil (Linz et al., 2021) ainsi que la prédisposition génétique. Par exemple, une revue épidémiologique portant sur la FA mentionne 39 différents polymorphismes associés avec l'IMC ainsi que des variants génétiques impliqués dans la synthèse de canaux ioniques et de sarcomères (Zhang et al., 2021). Certaines complications cardiovasculaires comme la myocardite ou l'infarctus peuvent aussi être des

éléments déclencheurs de la FA. Cependant, il est à noter que la plupart de ces facteurs n'affectent généralement que le côté gauche du cœur (oreillette et ventricule). De ce fait, de nombreuses études se sont intéressées à la FA dans un contexte de remodelage cardiaque gauche, négligeant ainsi les particularités pathophysiologiques qui peuvent exister au niveau du côté droit dans la formation de substrat arythmogène auriculaire.

1.1.3 Les maladies du cœur droit

On qualifie de maladie du cœur droit, ou MCD, toute condition pathologique cardiovasculaire affectant principalement l'oreillette droite (OD) ainsi que le ventricule droits (VD) et causant un remodelage aux niveaux morphologiques et électriques de ces cavités (Gunturiz-Beltrán et al., 2022; Lucia Agoston-Coldea et al., 2015; Tadic et al., 2018). L'inflammation engendrée par la MCD va également favoriser la formation de fibrose dans le tissu cardiaque et donc provoquer une situation d'IC. Ces remodelages structurels et fonctionnels prédisposent les oreillettes à la FA (Hiram et al., 2019; Korantzopoulos et al., 2018). Cela peut s'accompagner de modifications hémodynamiques néfastes dans la circulation pulmonaire qui est directement connectée au cœur droit (ex : augmentation de la résistance lors de l'éjection du sang par le VD) (Pinsky, 2016). Parmi les causes de MCD les plus souvent rencontrées dans un cadre clinique, on compte la maladie pulmonaire chronique obstructive (MPOC), la sténose pulmonaire (SP), la tétralogie de Fallot (TF) ainsi que l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP).

La MPOC, en plus d'être une des principales causes de décès à l'échelle mondiale ainsi que la maladie pulmonaire la plus répandue, elle affecte de plus en plus d'individus, d'années en années (Goudis, 2017). Également, chez près du quart des patients ayant déjà une forme de FA, une MPOC est aussi présente (Simons et al., 2021). Les patients souffrant de MPOC présentent généralement un remodelage du cœur droit via l'augmentation de la pression sanguine pulmonaire (Simons et al., 2021). La tétralogie de Fallot, quant à elle, est une maladie congénitale se caractérisant par une malformation cardiaque majeure créant une communication entre les ventricules gauche et droit ainsi qu'un resserrement au niveau du passage du sang dans le tronc artériel pulmonaire (Boengler et al., 2021). La pression du sang ventriculaire étant moins bien

régulée d'un côté à l'autre, elle se retrouve supérieure aux valeurs physiologiques et génère l'hypertrophie du VD (Boengler et al., 2021). Ces différences morphologiques ont pour effet de générer une cyanose chez les patients (Van Der Ven et al., 2019).

Parmi les cardiopathies congénitales actuellement recensées, un peu plus de 6% des enfants dans le monde qui en ont une à la naissance, auront une tétralogie de Fallot (Balzer, 2019). Une autre cardiopathie congénitale causant un remodelage morphologique du côté droit du cœur est la SP. Elle se caractérise par une ouverture réduite au niveau de la valve pulmonaire, ouverture par laquelle le sang du ventricule droit est normalement expédié vers les poumons (Marchini et al., 2023). Davantage d'enfants ayant des malformations cardiaques naissent en présentant cette condition (8%) que la tétralogie de Fallot, mais elles peuvent parfois se développer de manière concomitante (Marchini et al., 2023).

Globalement, ce type d'anomalies de naissance touche près de cinquante millions de personnes d'âge adulte dans le monde (Mutluer & Çeliker, 2018). Au Québec, c'est environ 1,3% des enfants qui naissent avec une cardiopathie congénitale (Mackie et al., 2019). Selon des données canadiennes datant de 2010, la majorité des cardiopathies congénitales recensées concernent des adultes, ce qui permet de constater les progrès réalisés en termes de chirurgies cardiaques (Marelli et al., 2022). Enfin, l'HTAP, une condition cardiovasculaire pouvant être mortelle, est particulièrement répandue chez les gens âgés de plus de 65 ans ou étant atteints d'insuffisance cardiaque (Mandras et al., 2020). Cette pathologie contraint le cœur droit à l'hypertrophie afin de compenser la diminution de sa capacité d'éjection (Asosingh & Erzurum, 2018).

Tel que mentionné précédemment, d'autres facteurs de risque liés aux habitudes de vie ou à certains problèmes n'étant pas nécessairement de nature cardiaque, comme l'obésité, par exemple, peuvent affecter les deux côtés du cœur sur différents paramètres (Alpert et al., 2016). Un remodelage cardiaque conséquent peut résulter des multiples variations hémodynamiques ou métaboliques qu'expérimentera un individu obèse (Alpert et al., 2016). Un autre exemple, l'apnée du sommeil chronique, pouvant notamment découler de l'obésité, est associée à une détérioration de la respiration qui favorise l'HTAP (Alpert et al., 2016).

1.1.4 Impacts sur l'oreillette droite lors de MCD

En cas de MCD, au même titre que le VD, l'OD peut souvent être directement affectée au niveau de sa morphologie ou de ses fonctions principales (Waligóra et al., 2018). Le groupe de cellules formant le nœud sinusal, ou sino-auriculaire, (NS) se trouvant dans la portion supérieure de l'OD (Choudhury et al., 2015), il est possible que des dérangements électrophysiologiques surviennent lorsqu'une pathologie provoque l'augmentation de la dimension de la chambre et/ou l'apparition de fibrose, par exemple (Hopman et al., 2023). En contexte d'hypertension pulmonaire, une dilatation de la cavité auriculaire ou une augmentation de la quantité de tissu fibrotique peuvent être observées, provoquant une conduction anormale du courant électrique issu du NS à travers le tissu auriculaire, vers le nœud atrio-ventriculaire (NAV) (Hopman et al., 2023; Mercurio et al., 2018; Temple, 2017). Ces anomalies de conduction favorisent ainsi le déclenchement d'arythmies auriculaires (Waligóra et al., 2018).

Une autre conséquence caractéristique d'un changement majeur de la dimension de l'OD est l'apparition de fuites sanguines au niveau de la valve tricuspide située à la jonction avec le VD (Guta et al., 2021). Les fuites tricuspidiennes résultent d'un étirement de l'anneau tricuspide causé par la dilatation du VD qui annule l'étanchéité de la valve, permettant alors un écoulement sanguin entre l'OD et le VD aux moments où les feuillets de la valve devraient être complètement fermés (Guta et al., 2021; Prihadi et al., 2019). Ce phénomène est fréquent chez les patients souffrant aussi de HTAP ou de FA (Guta et al., 2021).

1.1.5 Les MCD et les arythmies auriculaires

Des articles rapportant des cas cliniques de patients souffrant de diverses conditions cardiaques entraînant des MCD ont décrit de potentiels liens entre celles-ci et la prévalence de FA (Drakopoulou et al., 2018; Egbe et al., 2019; Olsson et al., 2013; Simons et al., 2021). Notamment, dans une étude rapportée par Olsson et al. (2013) ayant pour but de mesurer l'incidence de FA ou de FIA chez des participants atteints d'hypertension artérielle pulmonaire ou d'hypertension pulmonaire thromboembolique chronique inopérable, il a été observé que près de 20% des patients étaient susceptibles aux déclenchements d'arythmies supraventriculaires (Olsson et al.,

2013). Une autre étude s'intéressant aux arythmies auriculaires en contexte d'hypertension artérielle pulmonaire idiopathique ou associée à sclérose systémique a également démontré une potentielle association entre les phénomènes arythmiques et une élévation du taux de mortalité. De plus, 42 des 317 (13.2%) patients recrutés pour cette expérience ont développé des arythmies auriculaires durant leur suivi et la majorité étaient des épisodes de FA (Mercurio et al., 2018).

La tétralogie de Fallot, bien qu'étant une condition congénitale extrêmement problématique, peut être corrigée chirurgicalement afin de permettre aux individus d'avoir une vie plus normale (Van Der Ven et al., 2019). Cependant, même après une réparation, certaines complications électrophysiologiques peuvent persister dans le temps des deux côtés du cœur (Egbe et al., 2019). À ce propos, une étude regroupant un peu plus de 400 patients adultes ayant eu cette chirurgie par le passé a démontré que près du quart de ceux-ci souffraient de FA (Egbe et al., 2019). De plus, une proportion de ces patients (16 %) avait un historique de plusieurs hospitalisations en lien avec une insuffisance cardiaque droite plus important que les patients n'ayant pas de FA documentée (Egbe et al., 2019). Le remodelage généré par la tétralogie de Fallot, comme la dilatation de l'OD et/ou les fuites tricuspidiennes par exemple, prédisposerait ces individus au développement de troubles du rythme et d'anomalies de contractilité du myocarde (Krieger et al., 2022).

Des maladies ou conditions physiques non pulmonaires peuvent aussi avoir des effets négatifs sur le cœur et provoquer une hypertrophie ainsi qu'une dilatation des cavités du côté droit notamment (Conti et al., 2021; Gupta et al., 2022; Takagi et al., 2020). À titre d'exemple, l'obésité est associée à une augmentation de la pression et du volume au niveau des deux ventricules, créant un substrat pour le déclenchement de FA (Gupta et al., 2022). L'élévation de l'expression génique de composantes du système RAA (Rénine-Angiotensine-Aldostérone), en particulier de l'aldostérone, observée chez des patients obèses atteints d'insuffisance cardiaque avec réduction de la fraction d'éjection (ICrFE) participe également au remodelage structurel et tissulaire des oreillettes (Gupta et al., 2022; Olivier et al., 2017; Reil et al., 2012). Aussi, l'inflammation, l'insulinorésistance et l'accumulation de gras viscéral qu'implique un profil obèse peuvent mener à l'apparition d'apnée du sommeil une condition pouvant causer un remodelage cardiaque

caractéristique des MCD en diminuant les facultés respiratoires d'un individu (Romero-Corral et al., 2010).

D'ailleurs, les travaux de Chatterjee et al. publiés en 2017 portant sur l'étude de l'association entre des marqueurs génétiques associés à l'indice de masse corporelle (IMC) ainsi que la FA. Durant les années de suivi dans le cadre de l'étude, près de 4000 cas de FA sont survenus chez les 51 646 participants. Les résultats de leur recherche ont ultimement supporté l'hypothèse d'un lien de causalité entre l'IMC et la FA. (Chatterjee et al., 2017). Parmi les variants analysés, le gène *Fto*, ayant une influence sur l'adiposité, l'IMC, les comportements alimentaires et la dépense énergétique, augmentait avec le risque de FA chez les individus inclus dans le projet (Chatterjee et al., 2017; Fawcett & Barroso, 2010).

1.1.6 L'inflammation : dénominateur commun entre la MCD et la FA ?

L'inflammation est de plus en plus décrite comme l'un des principaux événements physiopathologiques provoquant, avec la fibrose auriculaire, le développement de la FA (Harada & Nattel, 2021). Des maladies cardiovasculaires telles que l'infarctus du myocarde, la myocardite, la cardiomyopathie hypertrophique ou la MCD sont associées à un profil inflammatoire qui serait responsable de l'augmentation de l'incidence de la FA (El-Shetry et al., 2021; Goette & Lendeckel, 2021; Hiram et al., 2019; Marian & Braunwald, 2017; Sozzi et al., 2022).

Par définition, l'inflammation est un processus naturel du corps permettant de stimuler le système immunitaire afin d'enclencher une réponse dans le but d'initier la réparation d'un tissu endommagé et/ou de repousser voire d'éliminer des pathogènes (Rathinam & Chan, 2018). Cette réponse se traduit généralement par l'intervention de diverses cellules immunitaires (Harada & Nattel, 2021; Rathinam & Chan, 2018).

En effet, la réponse inflammatoire est orchestrée de manière à conduire à la résolution et au retour à l'homéostasie (Rathinam & Chan, 2018). Plus précisément, quand une infection ou une condition pathologique occasionne des dommages aux niveaux tissulaire ou cellulaire (ex : ischémie lors d'un infarctus, infection virale, forte pression exercée sur les parois des cavités

cardiaques), la réponse immuno-inflammatoire se manifeste par l'expression de gènes pro-inflammatoires, par la production de cytokines/chimiokines ainsi que par le recrutement de cellules immunitaires (macrophages ou lymphocytes) aux sites affectés (Suetomi et al., 2018). Toute condition provoquant un maintien anormal de l'inflammation conduit à un statut inflammatoire chronique pouvant causer des dysfonctions tissulaires et systémiques irréversibles (Suzuki, 2019).

La chronicité du statut inflammatoire est entretenue par la perpétuation de l'activité de ces signaux et cellules immunitaires qui stimulent la sécrétion de davantage de protéines pro-inflammatoires (M. Li et al., 2021; Suzuki, 2019). Dans un modèle murin transgénique dont le gène CaMKII δ (Protéine kinase Ca²⁺/Calmoduline-dépendante delta) a été inactivé par knockout au niveau des CM, il a été décrit que la surcharge de pression sanguine du côté gauche du cœur occasionnée par une chirurgie de constriction trans-aortique (CTA) provoque l'assemblage ainsi que l'activation du complexe protéique NOD-Like Receptor Pyrin domain containing protein 3 (NLRP3) inflammasome dans les CM via une cascade de signalisation moléculaire impliquant NF κ B Nuclear Factor-kappa B (NF κ B), un acteur clé de l'inflammation (Suetomi et al., 2018). L'activité de l'inflammasome NLRP3 est à l'origine de la synthèse de cytokines telles que l'interleukine 1 bêta (IL-1 β) ou l'interleukine 18 (IL-18), deux marqueurs importants de l'inflammation cardiaque (Sethwala et al., 2021) (Sethwala et al., 2021). En fait, la caspase 1, une enzyme protéase faisant partie du complexe inflammasome NLRP3, va procéder au clivage de la forme inactive des cytokines IL-1 β et IL-18 afin de les rendre fonctionnelles (Rathinam & Chan, 2018).

D'autres biomarqueurs pro-inflammatoires contribuent directement au statut inflammatoire auriculaire en contexte de pathologie chronique comme l'interleukine-6 (IL-6) ainsi que le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α). Des corrélations entre l'expression de ces cytokines au niveau auriculaire et l'incidence de FA ont déjà été établies à partir de tissus auriculaires obtenus chez des patients (Harada & Nattel, 2021). En se liant aux récepteurs de facteurs de nécrose tumorale (TNFR), TNF- α va activer NF κ B qui va ensuite entrer dans le noyau des CM pour générer la transcription de gènes associés entre autres aux réponses inflammatoires.

En plus des molécules aux propriétés pro-inflammatoires, d'autres composés peuvent entraîner une activation de NFκB. Par exemple, la thrombine, une enzyme responsable de la conversion du fibrinogène en fibrine dans le processus de coagulation, va indirectement stimuler NFκB par une cascade de réactions et donc amplifier la réponse inflammatoire dans le tissu auriculaire (Bukowska et al., 2013). Un autre cas est celui des motifs moléculaires associés aux pathogènes (MAMP) qui, via leur détection par des récepteurs membranaires de type « Toll-like » (TLR), vont entraîner eux aussi une mise en marche de NFκB (Kawai & Akira, 2007). Compte tenu du modèle animal d'HTAP étudié dans ce projet, il est intéressant de noter l'importance du système rénine - angiotensine-aldostérone (SRAA) dans le déclenchement de l'inflammation au niveau auriculaire. Des recherches précliniques ont mis en évidence une corrélation entre le développement de l'HTAP/HTP et l'activation du SRAA, visant à contrebalancer la surcharge de pression prolongée du VD. (Ameri et al., 2016). Une des composantes de ce système, l'angiotensine II (ANGII), peut activer NFκB et contribuer à l'inflammation dans les oreillettes et accentuer la formation de fibrose. Son impact sur le développement de la FA est donc concret (Patel et al., 2010) **(Figure 1)**. De plus, l'ANGII stimule notamment l'expression du ligand de motif C-X-C de la chimiokine-1 (CXCL1), un marqueur inflammatoire qui régule le recrutement de cellules immunitaires dans un tissu affecté de manière aiguë ou chronique. Son rôle dans la mise en place d'un statut fibrotique cardiaque est d'ailleurs bien décrit dans la littérature (C.-L. Wu et al., 2021).

La résolution de l'inflammation est un processus se déroulant généralement en parallèle des processus inflammatoires actifs. Elle implique généralement un affaiblissement du statut pro-inflammatoire ainsi qu'une amplification de mécanismes anti-inflammatoires et antioxydants. Par exemple, il peut y avoir production de médiateurs lipidiques pro-résolution (ex : résolvines) à partir d'acides gras qui vont réduire l'inflammation, notamment en empêchant un recrutement trop important de cellules immunitaires dans un tissu donné ou en changeant le phénotype de certains macrophages afin qu'ils soient pro-résolution. Lorsqu'un tissu est fortement endommagé, la phagocytose de neutrophiles en état apoptotique par des macrophages contribue aussi à freiner l'inflammation (Halade & Lee, 2022; Schuster et al., 2018). Un autre exemple de

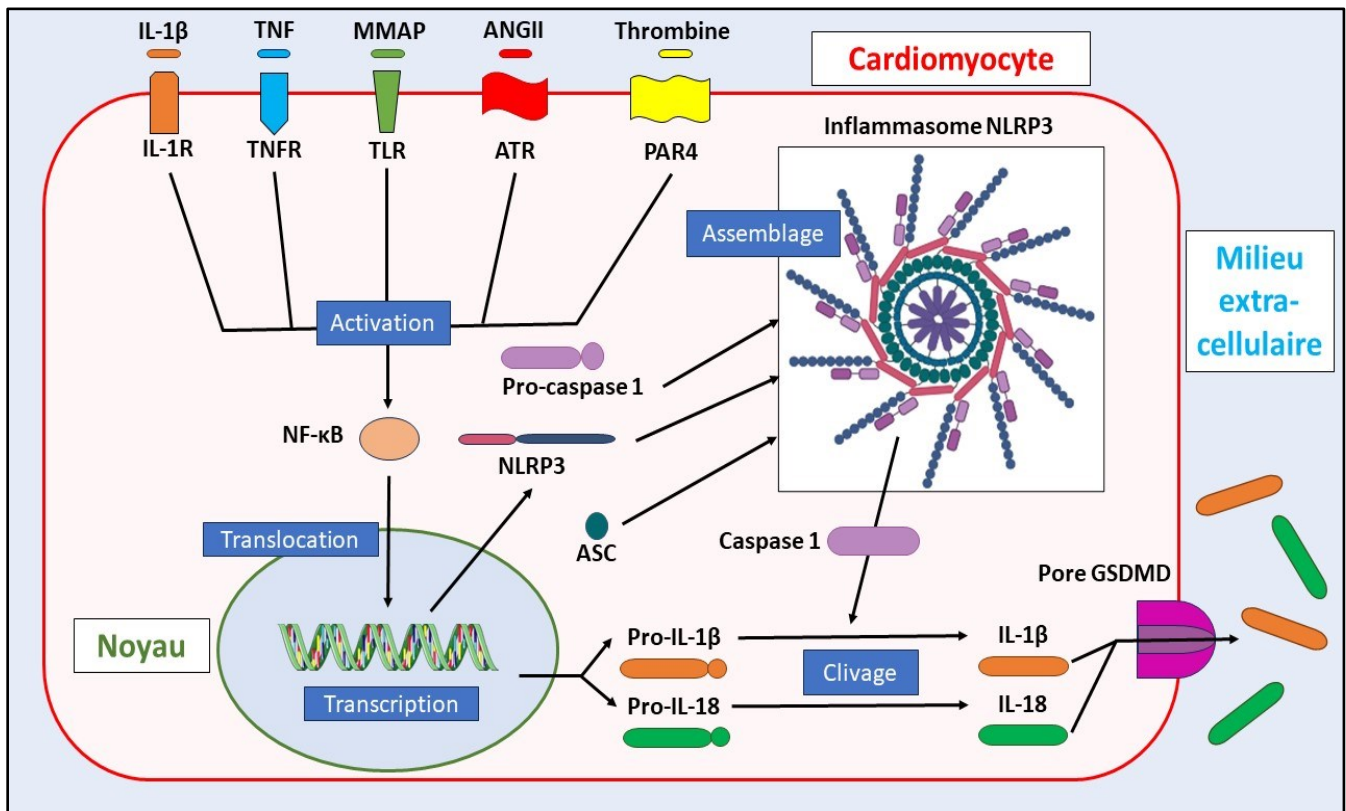


Figure 1 Voies de signalisation moléculaires impliquées dans l'inflammation

Note. Représentation schématique de l'activation de la protéine NF-κB (Facteur Nucléaire kappa B), de son action sur la transcription de gènes notamment impliqués dans la composition du complexe NLRP3 inflammasome ainsi que de la production de cytokines pro-inflammatoires en réponse à divers stimuli au niveau des cardiomyocytes. IL-1β = Interleukine 1 bêta, IL-1R = Récepteur à l'interleukine 1, TNF = Facteur de nécrose tumorale, TNFR = Récepteur aux facteurs de nécrose tumorale, MMAP = Motifs Moléculaires Associés aux Pathogènes, TLR = Récepteur aux protéines Toll-like, ANGII = Angiotensine II, ATR = Récepteur à l'Angiotensine II, PAR4 = Récepteur activé par les protéases 4, NLRP3 = Protéine contenant un domaine pyrine du récepteur de type NOD 3, ASC = Protéine adaptatrice apoptotique contenant un domaine de liaison à la caspase, IL-18 = Interleukine 18, GSDMD = Gasdermine D. Figure réalisée par Charles-Alexandre LeBlanc à partir de l'article « *Inflammatory signalling in atrial cardiomyocytes : a novel unifying principle in atrial fibrillation pathophysiology* » (Dobrev et al., 2023)

résolution est l'action de cytokines anti-inflammatoires telles que l'interleukine-10 (IL-10) qui vient interrompre la cascade de signalisation impliquant NFκB tout en favorisant une plus grande prolifération des lymphocytes B. (Harada et al., 2015).

1.1.7 Fibrose cardiaque : Une conséquence de l'inflammation

Lorsqu'elle apparaît dans le tissu auriculaire cardiaque, l'inflammation peut entraîner la formation de fibrose causant des troubles morphologiques et fonctionnels affectant les cellules du myocarde dont les cardiomyocytes et les fibroblastes (Suzuki, 2019; Tan & Zimetbaum, 2010). Résultant notamment du stress oxydatif accompagnant une perte de CM (ex : ischémie) ou une surcharge de pression (ex : chirurgie CTA), la fibrose cardiaque peut survenir en contexte pathologique cardiovasculaire. En milieu clinique, la fibrose au niveau du myocarde peut être retrouvée dans les cavités ventriculaires lors d'hypertension artérielle systémique, artérielle pulmonaire idiopathique, pulmonaire thromboembolique chronique ou lorsqu'un patient est atteint de diabète, par exemple (Andersen et al., 2019; Tuleta & Frangogiannis, 2021).

La fibrose cardiaque correspond à la formation et prolifération de fibroblastes (FB) qui sont normalement des cellules de soutien, ainsi qu'à la présence d'une quantité anormalement élevée de matrice extracellulaire (MEC) (C. Li et al., 2020). Les fibroblastes vont venir s'insérer entre les CM ou tenter de pallier l'absence de ces-dernières en se différenciant en myofibroblastes à la suite de la disparition des myocytes cardiaques (Hall et al., 2021). L'excès de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) venant avec le statut de stress oxydatif a un effet direct sur le processus de multiplication des fibroblastes, mais aussi sur leur différenciation en myofibroblastes, des cellules possédant à la fois des propriétés sécrétrices, de conduction électrique et de pseudo-contraction (C. Li et al., 2020; Tan & Zimetbaum, 2010; Xintarakou et al., 2020). En temps normal, la libération de DRO par les mitochondries dans les CM est généralement minimale, mais un dérèglement survient lorsque le cœur n'est plus en mesure de compenser en réponse aux variations hémodynamiques liées à une MCD, comme lors d'une HTAP, par exemple (Thandavarayan et al., 2020). De plus, les DRO vont perturber le fonctionnement des mitochondries quand ils sont

présents en excès, occasionnant des dégâts aux protéines et à l'acide désoxyribonucléique (ADN) des cellules du cœur ainsi qu'une diminution des antioxydants présents (Tsutsui et al., 2011).

Cependant, en dépit des effets compensatoires que la fibrose peut avoir sur le maintien d'une structure tissulaire, le faible potentiel membranaire des FB peut créer un ralentissement de la conduction électrique globale à travers la région du cœur affectée (C. Li et al., 2020). La formation de blocs de conduction complets est également possible si une zone particulière présente une densité de tissu fibrotique trop élevée (Campos et al., 2018). Le remodelage électrophysiologique causé par une inflammation chronique place alors le cœur dans une situation de vulnérabilité par rapport aux différentes formes d'arythmies (M. Li et al., 2021). Quand ce remodelage s'installe dans les parois des oreillettes, il y a une prédisposition à la formation d'un substrat arythmogène auriculaire (Y.-F. Hu et al., 2015). En plus de rendre un individu plus susceptible au déclenchement d'épisodes de FA, un cercle vicieux s'installe en raison de la FA elle-même qui va alimenter l'inflammation déjà présente et donc la formation de fibrose associée en créant des dommages tissulaires (Y.-F. Hu et al., 2015; Ihara & Sasano, 2022; Nattel et al., 2020).

Plusieurs marqueurs de la fibrose peuvent être étudiés dans le tissu cardiaque à une échelle génique et protéique. Parmi ceux-ci se trouve un acteur primordial de la production de fibrose lors d'une surcharge de pression, le facteur de croissance transformant bêta (TGF- β). Il stimule la prolifération, mais également la différenciation des fibroblastes (Lijnen et al., 2000; B. J. Thomas et al., 2016). En contribuant au maintien et à l'expansion du tissu fibrotique, le TGF- β peut occasionner un remodelage exceptionnel au sein du tissu cardiaque lorsque les lésions sont répétées (Lijnen et al., 2000). En effet, l'expression de cette cytokine est augmentée lors d'inflammation via la présence de cellules immunitaires qui la sécrètent (Biernacka et al., 2011; Lijnen et al., 2000; B. J. Thomas et al., 2016; A. Wang et al., 2019). Elle est aussi normalement présente en faible quantité dans le tissu cardiaque en raison de sa production par les CM et les FB (Xintarakou et al., 2020). Des études passées ont d'ailleurs démontré qu'une surexpression du gène *Tgb1* pouvait être observée dans un contexte d'hypertension sanguine ou d'hypertrophie cardiaque chez des rats. (Lijnen et al., 2000; Villarreal, 1996).

En se liant à des récepteurs sérine/thréonine situés sur la membrane des cellules, le TGF- β enclenche une cascade de signalisation impliquant notamment la phosphorylation ainsi que l'activation des protéines SMAD (2/3 et 4) qui vont influencer l'intensité avec laquelle certains gènes pro-fibrotiques seront exprimés (Kubiczkova et al., 2012; Xintarakou et al., 2020). Au terme de cette chaîne de réaction, la synthèse de collagène et de fibronectine, des protéines composant la MEC, sera plus importante (Biernacka et al., 2011; Kubiczkova et al., 2012; Lijnen et al., 2000; Nattel et al., 2020). Actuellement, trois isoformes distincts de TGF- β sont documentés (TGF- β 1, TGF- β 2 et TGF- β 3), mais avec une composition plutôt similaire (Kubiczkova et al., 2012). De plus, ils interagissent tous avec les mêmes récepteurs membranaires (Biernacka et al., 2011; Kubiczkova et al., 2012).

En plus d'assurer un maintien de la cohérence tissulaire, les myofibroblastes vont sécréter plusieurs types de protéines ayant des fonctions divergentes (inflammation, fibrose, croissance, etc.) (Tan & Zimetbaum, 2010). Parmi ces protéines produites, il y a l'actine de muscle lisse alpha (AML- α), mais surtout le collagène de type 1 (COL1A1) qui est majoritairement présent dans la MEC (Frangogiannis, 2021). C'est le gène *Acta2* qui est responsable de la production d'AML- α , une protéine octroyant aux myofibroblastes présentes au sein du tissu auriculaire leurs capacités contractiles caractéristiques. Pour COL1A1, sa plus forte présence dans un tissu cardiaque serait directement corrélée à un profil fibrotique, une hypertrophie ainsi qu'à un étirement tissulaire engendré par une élévation de la post-charge. De plus, une forte concentration de collagène dans l'OD vient interférer avec la composition normale du circuit électrique et favorise l'apparition d'arythmies (Nattel et al., 2020).

1.1.8 Sénescence cellulaire et inflammation

Le stress cellulaire qu'engendre un profil inflammatoire fait partie des principales causes du déclenchement de l'état de sénescence cellulaire. Cet état, se caractérise typiquement par une interruption de la mitose et donc de la prolifération des cellules d'un tissu ainsi qu'un remodelage tissulaire via le recrutement de cellules progénitrices pouvant se différencier (Muñoz-Espín & Serrano, 2014). En dépit des bénéfices que peut présenter la sénescence comme la réparation ou

le remodelage tissulaire, elle implique une détérioration physiologiquement complexe (Huang et al., 2022).

Généralement, ce processus associé au vieillissement s'enclenche à la suite d'un stress affectant directement une cellule (ex : endommagement de l'ADN, stress oxydatif) (Guo et al., 2021). Les CM n'étant naturellement pas en mesure de se diviser, leur réaction à l'instauration d'un profil sénescence diffère des autres types de cellules. Parmi les principales conséquences que la sénescence peut avoir sur les CM, il y a l'hypertrophie, la diminution des capacités contractiles, la sécrétion de cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires et/ou une dysfonction mitochondriale (Tang et al., 2020).

Lors de pathologies de nature cardiovasculaire, l'état sénescence peut être déclenché et contribuer à l'apparition d'autres problématiques dans un même tissu. La sénescence de CM provoquée par la sécrétion de cytokines et des dérèglements calciques/sodiques dans les oreillettes de souris diabétiques en est un exemple (Tang et al., 2020). Elle peut même contribuer à la formation de substrat arythmogène via la production de DRO et de fibrose (Guo et al., 2021). Des niveaux d'expressions de marqueurs de sénescence (p53, p16) supérieurs à la normale ont déjà été mesurés dans des tissus auriculaires droits d'une cohorte de patients souffrant de FA (Jesel et al., 2019). Les résultats d'une étude ont d'ailleurs supposé que sur des cœurs de souris âgées, la fibrose provenant du statut sénescence est plus prononcée et prédispose davantage aux arythmies dans le VD que VG (Stein et al., 2008). À partir des données disponibles dans la littérature, il est envisageable de supposer une relative vulnérabilité du cœur droit à la sénescence. En comprenant la dynamique de cercle vicieux qui existe entre l'inflammation et la sénescence, il apparaissait utile au propos de l'étude de les comparer chez des animaux présentant une MCD de manière chronique (Pezone et al., 2023). La prévalence des cellules immunitaires en situation d'inflammation contribue à cette sénescence puisqu'elles peuvent également en être atteintes.

Trois marqueurs prédominants de la sénescence (*Cdkn1a*, *Cdkn2a*, *Tp53*) ont été sélectionnés puis étudiés dans le cadre de ce projet. Tout d'abord, la protéine p21 ou CDKN1A (Cyclin-dependent kinase inhibitor 1), codée par le gène *Cdkn1a*, permet de contrôler la prolifération cellulaire grâce à sa capacité à interrompre la division des cellules et à induire l'apoptose lors de

dommages cellulaires (Kreis et al., 2019). La protéine p16/CDKN2A (Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A) est un autre des principaux marqueurs de sénescence. De plus, une étude clinique de 2019 a comparé l'expression protéique de marqueurs de sénescence avec ceux d'inflammation par immunobuvardage de type Western à partir d'échantillons tissulaires d'appendices de l'OD provenant de 21 patients ayant de la FA ainsi que 21 autres ayant un RS soutenu collectés durant des chirurgies thoraciques. Parmi ces marqueurs, l'immunofluorescence a permis de voir que la protéine p16/CDKN2A (Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A) était beaucoup plus exprimée chez les patients ayant présenté de la FA que ceux avec un RS (Jesel et al., 2019). Enfin, la protéine p53 synthétisée à partir du gène *Tp53* est aussi un marqueur de sénescence dont l'expression est plus haute en cas de complications au niveau cardiaque telles que la FA (Guo et al., 2021). Comme les deux marqueurs précédemment décrits, p53 interrompt le cycle cellulaire, mais elle est aussi associée à un déclenchement précoce du statut sénescence en réponse à un stress dans les CM (Tang et al., 2020).

1.1.9 But de l'étude

L'objectif primaire de cette étude était de caractériser le lien de causalité qui existe entre l'inflammation et la FA en contexte de MCD. Cette relation demeure encore peu documentée dans la littérature actuelle. Dans l'optique d'identifier les principaux acteurs pro-inflammatoires et pro-arythmogènes impliqués lorsqu'une personne est atteinte d'une MCD, une caractérisation détaillée de l'évolution de l'inflammation arythmogène auriculaire dans le temps a été établie chez un modèle animal de ligature partielle du tronc pulmonaire artériel. Ce modèle a permis de mimer l'hypertension artérielle pulmonaire et d'induire ses conséquences cardiaques structurelles et tissulaires afin de créer une MCD.

L'aspect temporel de ces travaux, impliquant l'analyse de données obtenues durant les trois semaines suivant la chirurgie, avait pour but de mesurer les variations d'une multitude de paramètres liés à l'inflammation, la fibrose et l'électrophysiologie. Ce faisant, des informations ont pu être recueillies quant aux moments et localisations de certains marqueurs. Ces données pourraient servir dans l'approfondissement de ces connaissances ou dans l'élaboration d'une

éventuelle approche thérapeutique. Ultimement, cela permettrait d'améliorer de manière considérable la qualité de vie de patients souffrant de FA ou de MCD.

L'hypothèse initialement émise était qu'une constriction partielle chronique du tronc pulmonaire chez le rat entraînerait conséquemment une hypertension artérielle pulmonaire et donc le développement d'une MCD sévère en raison d'un important remodelage morphologique, électrophysiologique et fonctionnel du cœur droit. En effet, les modèles animaux LTP représentent une avenue expérimentale pertinente pour l'étude des effets d'une hypertension pulmonaire sur le cœur droit *in vivo*. (Akazawa et al., 2020; Dignam et al., 2022; X. Wu et al., 2022). Ce remodelage prédisposerait également l'animal à développer un profil inflammatoire ainsi qu'à le rendre susceptible aux arythmies auriculaires. Une intensification suivie d'une phase plateau, une intensification suivie d'une diminution ainsi qu'une accentuation constante des processus inflammatoires sans qu'il n'y ait de résolution correspondaient aux différents scénarios considérés dans la description de la progression de l'inflammation arythmogène auriculaire à travers le temps.

Chapitre 2 – Matériel et méthodes

2.1 Chronologie du projet

Des rats Wistar ont été répartis en quatre groupes en fonction de la date de leur sacrifice suivant leur chirurgie. D'abord, chaque animal a reçu une échocardiographie ainsi qu'une étude électrophysiologique. Les animaux ont ensuite été euthanasiés et leur cœur a été prélevé pour la cartographie optique sous perfusion dans un système de Langendorff. Aux jours prévus, les euthanasies ont eu lieu durant l'avant-midi sans qu'il n'y ait de mise à jeun préalablement. Avant de collecter le cœur, les rats ont reçu une injection de 0.5 ml d'héparine par voie intrapéritonéale afin de minimiser la coagulation sanguine. Lors de l'extraction du cœur, une coupe a été réalisée sur l'aorte à l'aide d'un ciseau, juste après la crosse aortique. Une fois le cœur extrait, celui-ci a ensuite été plongé dans une solution de Krebs dans laquelle il fut nettoyé délicatement avec des pinces et préparé en vue de sa canulation par l'aorte, une étape nécessaire pour la cartographie optique. Le sang stagnant dans le cœur fut évacué par de légères pressions appliquées mécaniquement sur les ventricules. Les tissus auriculaires et ventriculaires ont ensuite été isolés du cœur se trouvant à nouveau dans une solution de Krebs. Les oreillettes étaient coupées avec un ciseau fin puis séparées en deux avec une lame de scalpel : une partie pour les études histologiques puis une autre pour la réaction de polymérisation en chaîne quantitative (RPCq) et à l'immunobuvardage de type Western. Une coupe transversale incluant la portion apicale des deux ventricules fut réalisée avec une lame de scalpel afin qu'ils puissent être analysés en histologie. Des rats Sham (sans ligature) ou LTP (Ligature du tronc artériel pulmonaire) ont été euthanasiés aux Jour 0, Jour 7, Jour 14 et Jour 21 suivant leur opération. Cette étude a été approuvée par le comité d'éthique animale de l'Institut de Cardiologie de Montréal sous le protocole numéro : 2021-47-01 (ou 2021-2938), le 19-02-2021.

2.1.1 Ligature partielle du tronc pulmonaire artériel

Afin de créer un modèle de maladie du cœur droit (MCD) causée par une augmentation de pression et de volume imposés au ventricule droit, des chirurgies de type LTP furent réalisées sur

des rats mâles Wistar de 225-275g fournis par les laboratoires Charles River®. Les commandes ne pouvant être réalisées qu'à partir du poids pour cette lignée de rats, leur âge approximatif a été déterminé selon la charte de croissance des rats Wistar fournie par Charles River®. Des rats mâles d'un tel poids étaient donc âgés d'environ 6-8 semaines (**Annexe 1**).

Lors des jours de chirurgies, les animaux étaient d'abord anesthésiés avec de l'isoflurane concentré à 2-3% ainsi qu'un débit d'oxygène de 2L/min. Ces-derniers ont ensuite été intubés puis connectés sur un ventilateur de type Harvard Apparatus® ajusté à 70-80 respirations/minutes en décubitus dorsal. Une première dose de buprénorphine 0.05 mg/kg leur a été administrée par injection sous-cutanée. Le côté gauche du thorax était ensuite rasé et épilé puis la zone était désinfectée avec trois passages de chlorhexidine 2% et trois passages d'alcool 70% en alternance. Les membres antérieurs ont été immobilisés à l'aide de ruban adhésif, le membre postérieur gauche a été tourné vers la droite de l'animal et le membre postérieur droit a été délicatement étiré vers le bas.

Une première incision de la peau a ensuite été pratiquée sur environ 2 cm à partir de la dernière côte vers la base du membre antérieur gauche. Les muscles pectoraux (pectoralis major et minor), ont par la suite été dégagés par dissection moussée en utilisant des ciseaux à bouts ronds et séparés pour permettre de visualiser correctement la cage thoracique située en-dessous. Avec une pince à dissection, un trou fut percé dans le muscle se trouvant entre la 3e et la 4e côte avant qu'une incision soit réalisée sur environ 1 cm avec des ciseaux en prenant les précautions nécessaires pour éviter d'abîmer les lobes pulmonaires gauches. L'incision fut ensuite agrandie avec une pince à dissection et les écarteurs magnétiques furent positionnés de manière à maintenir la plaie thoracique suffisamment ouverte pour pouvoir y travailler.

Avec cette procédure la portion supérieure du cœur comprenant l'oreillette gauche (OG) ainsi que les racines du tronc artériel pulmonaire et de l'aorte ont été exposées de manière reproductible. La fine couche de péricarde recouvrant le cœur à cet endroit ainsi que le tissu adipeux qui pouvait y être rattaché a d'abord été disséquée. Ainsi, il était plus simple de localiser la portion où l'aorte et le tronc pulmonaire artériel sont accolés. Une pince a été introduite sous le tronc pulmonaire à l'endroit où sa paroi se sépare clairement de celle de l'aorte afin d'y

acheminer un fil de soie tressée de type Perma-Hand 5-0 sans aiguille. Un nœud double suivi de deux nœuds simples furent réalisés autour d'une aiguille 19G (environ 1 mm de diamètre) émoussée orientée longitudinalement sur le vaisseau dans le but de créer une ligature partielle. Le diamètre du tronc pulmonaire de rats de 250-300g étant d'environ 2,5 mm, cela représente une réduction du diamètre d'approximativement 60%. Initialement, des aiguilles de plus petits diamètres ont été utilisées pour faire la ligature, mais une réduction de plus de 60% du diamètre s'est soldée par la mort de quelques animaux dans les jours suivants la chirurgie. L'aiguille fut enfin retirée sécuritairement avant de serrer le troisième nœud. (**Figure 2A**).

Finalement, après avoir repositionné les lobes du thymus, la fermeture de la cage thoracique s'est faite par une suture en croix avec du fil de soie tressée Perma-Hand 5-0 avec aiguille et la peau avec du fil résorbant Vicryl (polyglactine 910 tressée) 5.0 avec aiguille en plus d'une application d'adhésif pour tissu Vetbond. En soins post-opératoire, une seconde dose de buprénorphine a été donnée aux rats 6 heures après la procédure ainsi qu'une dose finale le lendemain, 24 heures post-op.

La méthode chirurgicale employée dans le cadre de ce projet est partiellement basée sur les travaux de Hirata et al., qui, en 2015, ont produit un modèle de rat d'âge/poids similaire souffrant de dysfonction ventriculaire droite. L'une des principales différences entre les procédures étaient leur usage de clips métalliques plutôt que de fils. En raison de la rigidité des clips, leur mise en place comporte certains risques (ex : hémorragie, occlusion complète accidentelle, occlusion insuffisante). Le fil a quant à lui les avantages de fournir un meilleur contrôle au chirurgien sur le pourcentage de réduction du diamètre du vaisseau visé et d'être moins agressif pour les tissus environnants. Néanmoins, ils ont généré efficacement un remodelage structurel et tissulaire du VD qui a pu être observé par histologie (Hirata et al., 2015).

2.1.2 Échocardiographie

À chaque date d'euthanasies prévues, soit à Jour 0, Jour 7, Jour 14, ou Jour 21, les rats furent soumis à une échocardiographie. Après avoir pesé et anesthésié les rats Sham ou LTP à l'isoflurane dans une boîte d'induction avec une concentration de 3% et un débit d'oxygène de

2L/min, une échocardiographie a été réalisée sur chacun d'eux par une technologue en échographie cardiaque à l'aide d'une sonde secteur/multiéléments GE 10S (4.5 à 11.5 MHz) et d'un système d'imagerie GE Vivid 7 Dimension® produits par la compagnie GE Healthcare. Le but était de collecter les données morphologiques et hémodynamiques en comparant les principales différences chez les Sham et les LTP en situation de maladie du cœur droit tout en validant le modèle chirurgicale.

Un radar Doppler à ondes ultrasonores continues (OC) fut utilisé afin d'étudier les modifications hémodynamiques observables au niveau du tronc pulmonaire artériel telles que la vitesse maximale atteinte par le sang, la pression sanguine la plus haute ainsi que le gradient moyen de pression de part et d'autre de la valve pulmonaire. De plus, l'emploi d'une vue parasternale à court axe, obtenue par positionnement de la sonde au niveau du thorax avec différents angles, permettait d'avoir un bon aperçu du vaisseau et de la ligature, dans les cas des rats LTP.

Pour le côté droit du cœur, c'est d'abord en positionnant la sonde de manière parasternale à long axe en mode M (structures en mouvement en fonction du temps) à hauteur de la valve aortique que différents paramètres du VD ont pu être évalués, plus particulièrement sa dimension (DVDd) et l'épaisseur de sa paroi antérieure (ÉPAVDd), à la fin de la diastole. La fonction ventriculaire droite, généralement évaluée grâce à une mesure du taux de déformation du tissu en cm/s lors d'une systole (Td), a été obtenue par un Doppler à ondes pulsées (OP), c'est-à-dire via émission d'ondes ultrasonores à intervalle spécifique, au niveau de la paroi basale/latérale du VD. En ce qui concerne l'OD, sa dimension et son aire en fin de systole (DODs et AODs) ont pu être calculées grâce à une vue 2D des quatre chambres. L'aire de l'oreillette en fin de diastole (AODd) a aussi été évaluée par cette méthode.

Au niveau de la valve tricuspide, le mode M a également servi à caractériser l'excursion systolique dans le plan de l'anneau tricuspide (ESPAT) dans le but de quantifier la fonction ventriculaire droite. Plus précisément, l'ESPAT correspond au déplacement de la valve tricuspide, située entre l'OD et le VD, vers l'apex du cœur durant la systole. Donc, il permet d'évaluer la capacité contractile du VD. Le flux sanguin traversant la valve tricuspide a été mesuré via l'utilisation d'un Doppler à OP. Ensuite, un Doppler à OC a fourni des renseignements visuels et mesurables quant

à la présence ou absence d'une régurgitation de sang dans l'OD via cette même valve, une conséquence observable chez des animaux LTP. L'aire, la vitesse maximale, la pression sanguine la plus élevée (G peak) et le gradient moyen de pression (G mean) d'une fuite furent notés. Les fuites ont aussi pu être visualisées grâce à une cartographie couleur en 2D lors d'une vue incluant les quatre cavités cardiaques.

Enfin, l'évaluation du côté gauche du cœur débutait par une vue parasternale à long axe en 2D et en mode M en se positionnant à la hauteur de la valve aortique afin d'inclure l'OG dans le champ de la sonde. Parmi les données obtenues, la dimension à la fin de la systole (DOGs) et de la diastole (DOGd) de l'OG furent notées. Pour le ventricule gauche (VG), le mode M avec une vision 2D fut encore une fois utilisé, mais dans ce cas-ci avec une vue parasternale à court axe orientée vers les muscles papillaires pour mesurer la dimension à la fin de la systole et de la diastole. Ces paramètres servent également à caractériser le raccourcissement fractionnaire (RF) du ventricule représentant la réduction de taille en pourcentage du VG lors de la systole. Elle permet ainsi de quantifier les capacités contractiles ventriculaires. Le mode M a également servi à déterminer l'épaisseur de la paroi antérieure du ventricule gauche en fin de diastole (ÉPAVGd). La fraction d'éjection de sang du VG lors de chaque contraction (FÉ) a quant à elle été calculée en pourcentage grâce à une fonction incluse dans le système du GE Vivid 7 Dimension.

L'augmentation du gradient de pression entre le VD et le tronc pulmonaire, la dilatation des cavités cardiaques droites, la présence de fuites de la valve tricuspide ainsi que l'absence de modifications significatives du cœur gauche chez les rats LTP en comparaison avec les rats Sham correspondaient toutes aux critères de validation *in vivo* du modèle chirurgical de cette étude. Ces modifications s'apparentent à celles qu'on peut observer lors d'une hypertension artérielle pulmonaire soutenue et indiquent le développement d'une MCD par un remodelage structurel et une perturbation hémodynamique.

2.1.3 Études électrophysiologiques

Les rats Sham et LTP ont été anesthésiés à l'isoflurane 2.5-3% avant de procéder au monitoring de leur ECG. Pour ce faire, des électrodes ECG furent insérées sous la peau des animaux (1 près

du membre antérieur gauche, 1 autre près du membre antérieur droit puis 1 dernier près du membre postérieur gauche) et un cathéter quadripolaire 4F avec une distance interpolaire de 5 mm (St. Jude Medical) introduit dans leur œsophage. Pour ce-dernier, il était nécessaire de valider son emplacement et sa proximité avec le cœur, plus précisément de l'OD, en comparant le signal et, conséquemment, le rythme cardiaque obtenu avec les électrodes placées en surface. Le positionnement du cathéter était considéré comme adéquat pour la procédure quand l'onde P (caractérisant la contraction auriculaire) de l'ECG de surface coïncidait avec l'onde P du signal ECG du cathéter (**Figure 13B**).

Le seuil de stimulation pour chaque animal a par la suite été déterminé. Il s'agit du voltage minimum à partir duquel le rythme du stimulateur influence la fréquence cardiaque. La stimulation pour le protocole d'évaluation de la vulnérabilité de la FA se faisait alors en multipliant par 4 le voltage du seuil. Ensuite, chaque rat a subi trois séries de 12 stimulations de 3 secondes chaque, à 50 Hz, suivies de 2 secondes de repos. Entre chaque série, les animaux ont eu une pause d'une minute (Reil et al., 2012).

Après chaque stimulation, le déclenchement de fibrillation auriculaire (FA) ou de flutter auriculaire (FIA) fut noté. La FA était définie comme l'apparition d'un rythme auriculaire très accéléré (> 600 battements par minute) et irrégulier. Le FIA correspondait plutôt à un rythme auriculaire rapide, mais relativement régulier auquel est associé une absence de l'onde P, indiquant une contraction anormale de l'oreillette. Afin de mesurer la susceptibilité au déclenchement d'arythmies auriculaires, seuls les épisodes durant plus d'une seconde furent comptabilisés. À la suite d'un de ces épisodes, si le rythme sinusal ne revenait pas par lui-même, les stimulations étaient interrompues pour ne pas mettre fin abruptement aux arythmies en cours. Si la FA ou le FIA avait une durée supérieure à 3 minutes, une défibrillation pouvait être requise pour tenter de forcer un retour au rythme sinusal. Pour ce qui est de la durée des épisodes, celle-ci correspondait à la moyenne, en secondes, de tous les épisodes pour chaque animal.

Lors de l'analyse des ECG obtenus, plusieurs ondes associées aux différentes étapes du cycle cardiaque furent mesurées. L'onde P représente la dépolarisation des oreillettes et donc leur

contraction tandis que le complexe QRS correspond à la dépolarisation/contraction des ventricules. Le segment PR reflète la conduction électrique passant par le NAV, il se situe entre la fin de P et le début du QRS. L'intervalle QT sert d'indication de la durée totale de dépolarisation et repolarisation des ventricules. Enfin, l'intervalle RR indique la durée entre deux battements cardiaques. Son interprétation permet aussi de déterminer la fréquence cardiaque d'un individu.

Les enregistrements des ECG et des sessions de stimulations furent réalisés via le logiciel d'acquisition IOX2 (version 2.10.8.25, EMKA Technologies) et les analyses de ceux-ci furent accomplies grâce au logiciel ecgAUTO (version 3.3.5.12, EMKA Technologies).

2.1.4 Cartographie optique

Le cœur des rats Sham et PAB fut collecté lors de leur sacrifice sous anesthésie avant d'être ensuite fixé sur une canule et perfusé par l'aorte d'une solution de Krebs composée de 1.25 mM de CaCl₂ diluée dans de l'eau déionisée à laquelle était ajouté 1.2 M de NaCl, 40 mM de KCl, 12 mM de MgSO₄ + 7H₂O, 12 mM de KH₂PO₄ et 0.25M de NaH-CO₃. Des électrodes étaient accolées au cœur après une période de stabilisation d'environ 10 minutes.

À ce stade, une solution de blebbistatine, un inhibiteur de la myosine empêchant les contractions cardiaques, fut ajoutée au circuit de perfusion. Après 10 minutes, un 5 mg de Di-4-ANEPPS dilué dans 2,5 ml de DMSO (diméthylsulfoxyde) afin d'obtenir une concentration de 2 mg/ml a également été injecté dans le circuit pour rendre les signaux électriques fluorescents dans l'obscurité et donc visibles. Les molécules de Di-4-ANEPPS, un colorant de type styryle, vont s'insérer dans les membranes des cellules du cœur. Les courants électriques traversant le tissu cardiaque vont faire changer le niveau d'absorbance lumineuse ainsi que l'intensité de la fluorescence du Di-4-ANEPPS. En fonction du voltage déployé et donc du potentiel membranaire, la fluorescence va varier. Les signaux fluorescents ont ensuite pu être visualisés dans l'obscurité grâce à l'utilisation d'une caméra de précision pour la micro-imagerie munie de photodétecteurs Optem GA122204.

Le champ de vision de la caméra fut positionné sur une région de l'OD en prenant soin d'inclure le nœud sinusal. C'est à cette étape que la perfusion de blebbistatine est utile puisque cette molécule, en limitant les mouvements mécaniques du cœur, permet de capturer des images avec

une grande stabilité. La durée de la période réfractaire effective (PRE) a été déterminée via l'utilisation d'un protocole S1-S2. Une série (S1-S1) de 10 pulses de stimulation à intervalles de 150 ms entre chaque pulse a été appliquée à l'oreillette. Un 11^e pulse (S2) a été envoyé à la suite du dernier S1. L'intervalle S1-S2 a ensuite été réduit de manière décroissante après chaque cycle S1-S2 consécutif, en commençant par un S1-S2 d'une durée de cycle de base (DCB) de 80 ms, jusqu'à ce que le tissu auriculaire ne se contracte plus en réponse au S2. Le DCB correspondant à l'intervalle S1-S2 ne générant pas de contraction auriculaire correspondait à la PRE. La durée du potentiel d'action à 80% de repolarisation (DPA80) et la vitesse de conduction électrique furent déterminées aux DCB 250, 200, 150 et 100 pour une durée de trois secondes chaque.

Enfin, la moyenne pour l'ensemble des rats Sham et LTP fut rapportée aux différents jours de sacrifices (J0, J7, J14, J21). De plus, la susceptibilité au déclenchement de FA a été évaluée en imposant des stimulations (« bursts ») de 50 Hz de 3 secondes chacune et espacée d'une seconde. Si un épisode de FA survenait, il y avait interruption des stimulations jusqu'au retour à un rythme cardiaque physiologique.

2.1.5 Histologie

À la suite du sacrifice des animaux par prélèvement du cœur et exsanguination, les tissus auriculaires gauches et droits furent collectés, nettoyés, puis finement séparés en utilisant une paire de ciseaux de dissection de type Iris. Une portion des oreillettes a servi pour des analyses histologiques dans le but de quantifier le taux de tissu fibrotique présent. Également, une coupe transversale du cœur incluant les deux chambres ventriculaires fut réalisée à l'aide d'une lame de scalpel. Les tissus prélevés ont été placés dans des cassettes histologiques préalablement identifiées (ID, tissu, date) avec un marqueur spécialisé.

Par la suite, les cassettes furent plongées dans un pot contenant une solution de formaldéhyde concentrée à 10% afin que les tissus soient fixés une première fois et entreposées dans un réfrigérateur à -4 °C durant au moins 24 heures. Si jamais elles devaient, pour une raison quelconque, rester plus d'une semaine dans ce même réfrigérateur, les cassettes étaient transférées dans un contenant d'éthanol concentré à 70%. Bien que le formaldéhyde soit utile

pour fixer rapidement un tissu en préservant ses organites et protéines, un entreposage sur une plus longue durée dans de l'éthanol permet une meilleure conservation de l'ADN et de l'acide ribonucléique (ARN) d'un tissu sans être toxique pour les techniciens devant manipuler les cassettes.

Subséquentement, les cassettes furent transférées dans différents paniers d'un processeur de tissus Thermo Scientific Excelsior ES afin que les tissus soient déshydratés et filtrés. Un cycle particulier a été sélectionné (#5) et des bains de formaldéhyde (10%), d'alcool (70, 95, 100%), de xylène et de paraffine se sont succédé. Par la suite, les cassettes contenant les tissus enrobés furent récupérées.

Le refroidissement et la fixation de la paraffine enrobant les tissus étaient possibles en déposant les moules les contenant sur une plaque refroidissante Shandon Histocentre 2. Des coupes fines de 6 µm de tissus enrobés ont ensuite été réalisées manuellement via l'utilisation d'un microtome Olympus 4060E. Chaque tranche d'intérêt fut déposée dans un bain d'eau chaude avant d'être récupérée/soulevée en prenant une lame histologique vierge qui a ensuite été asséchée à l'air ambiant.

La dernière étape de préparation, la coloration Trichrome de Masson, a permis de donner une couleur facile à distinguer aux diverses composantes des tissus auriculaires gauches et droites pour qu'elles puissent ensuite être analysés et pour que le taux de fibrose dans ceux-ci soit quantifié. Plusieurs étapes de bains et de rinçages des lames furent réalisées afin d'obtenir le résultat souhaité.

Plus précisément, les lames furent d'abord trempées dans des bains de xylène afin d'être déparaffinées. Ensuite un enchaînement de bains d'alcool à concentrations décroissantes (100% x2, 95% et 70%) fut réalisé avant que les lames soient réhydratées dans deux bains d'eau distillée. Par après, les cellules des oreillettes furent fixées grâce à un bain de liquide Bouin, une solution composée de formaldéhyde, d'acide picrique et d'acide acétique, chauffé à 56 °C. Après 1 heure, les lames sont demeurées dans la solution de Bouin, mais en ayant une température ajustée à celle de la pièce pendant 10 minutes. Après avoir sorti les lames de la solution, elles ont été rincées à l'eau courante puis à l'eau distillée afin qu'elles redeviennent visibles.

Pour colorer les noyaux cellulaires, les lames furent plongées dans une solution de Weigert à l'hématoxyline et encore une fois rincées à l'eau courante et distillée une fois sorties. Ensuite, elles ont été trempées dans une solution de Scarlet-fuschine, un colorant de fibres musculaires lisses, avant d'être rincées dans quatre bains d'eau distillée de suite. Les lames ont alors baigné successivement dans de l'acide phosphomolybdique et de l'acide phosphotungstique, des agents réducteurs pouvant fournir un meilleur contraste à la coloration. Ensuite, elles furent transférées dans un bain de Bleu d'aniline, un colorant de collagène, avant un rinçage dans quatre bains d'eau distillée. À ce stade, les lames furent trempées dans de l'acide acétique 1% glaciale avant d'être plongées dans deux bains d'alcool 95%, deux bains d'alcool 100% ainsi que deux bains de xylène.

Aux termes de cette préparation, les noyaux des CM étaient désormais colorés en noir, les cytoplasmes des cellules musculaires en rouge et le collagène en bleu. Le logiciel ImagePro Premier 9.3, a permis de prendre et d'analyser plusieurs photos de chacune des lames. Le pourcentage de tissu fibrotique par rapport au tissu musculaire fut alors calculé pour chaque photo.

2.1.6 RPC quantitative

À partir des tissus auriculaires gauches et droits prélevés lors du sacrifice des rats, transportés dans de l'azote liquide et entreposés dans un congélateur à -80 °C, des analyses RPCq furent menées afin de quantifier la synthèse d'acide ribonucléique messenger (ARNm) de différents gènes associés à certains processus inflammatoires, la fibrose, la synthèse de canaux ioniques, la machinerie calcique ainsi que la sénescence cellulaire. La purification des ARNm à partir des tissus a été réalisée en utilisant le matériel du kit de PCR Nucleospin RNA (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Dueren, Allemagne).

Pour purifier les ARNm, le kit NucleoSpin® RNA a été utilisé selon le protocole prévu pour 30 mg d'échantillon de tissu. D'abord, l'échantillon a été homogénéisé mécaniquement à l'aide d'un appareil Polytron. Après, 350 µL d'une solution de lyse cellulaire RA1 et 3,5 µL de l'agent réducteur β-mercaptoethanol empêchant la dégradation enzymatique des ARN par les RNases furent ajoutés dans le tube contenant l'échantillon avant d'être vortexé fortement.

Le lysat a ensuite été transféré dans un tube NucleoSpin® Filter permettant de le filtrer par centrifugation (11 000g, 1minute) en enlevant les débris cellulaires de la solution. Le NucleoSpin® Filter fut alors retiré du tube et 350 µL d'éthanol 70% ont été ajoutés. Cinq vas et viens à l'aide d'une pipette ont permis de mélanger le contenu et d'ainsi faire précipiter les acides nucléiques dans un tube. Le lysat fut alors transféré vers une colonne NucleoSpin® RNA insérée dans un tube prévu à cet effet avant d'être centrifugé à 11 000 g pendant 30 secondes. Une membrane de silice se trouvant dans la colonne a permis l'adsorption des molécules d'ARN et d'ADN à sa surface.

La colonne fut placée dans un nouveau tube de 2 ml puis 350 µL de MDB (Membrane Desalting Buffer) ont été ajoutés avant une de faire une autre centrifugation à 11 000 g durant 1 minute afin de retirer les sels de la solution, d'assécher la membrane de silice et d'ainsi amplifier l'efficacité de la DNase. Dans un tube de microcentrifuge de 1.5 ml, un mixte de 10 µl de DNase reconstituée (rDNase) et 90 µl d'un tampon de réaction pour la rDNase a été préparé. 95 µl de la mixture a été déposé au milieu de la membrane de silice de la colonne et laissé pour incuber à température pièce pendant 15 minutes. L'utilisation de rDNase a permis d'éliminer l'ADN pouvant contaminer les données d'expression, notamment en les amplifiant de manière artificielle.

Pour le rinçage ainsi que le séchage de la membrane de silice, ils se sont faits en trois étapes. Premièrement, 200 µl de tampon RAW2 furent introduits dans la colonne NucleoSpin® RNA afin d'inactiver la DNase avant qu'elle soit centrifugée à 11 000 g durant 30 secondes. Cette même colonne a ensuite été placée dans un nouveau tube de 2 mL puis 600 µl de tampon RA3 ont été ajoutés à la colonne puis elle a été centrifugée à 11 000 g pendant 30 secondes. Enfin, 250 µl de RA3 furent ajoutés dans la colonne NucleoSpin® RNA pour qu'elle soit ensuite centrifugée à 11 000 g durant 2 minutes afin d'assécher la membrane. La colonne a ensuite été placée dans un autre tube de 1.5 ml. Par ces étapes, des sels, des métabolites et des macromolécules d'origines cellulaires ont pu être détachés de la membrane de silice présente dans la colonne.

Les ARN ont finalement été élués de la membrane de silice par l'ajout de 60 µl d'eau Hypure™ (Cytiva, Vancouver, BC, Canada), adéquate pour la biologie moléculaire et dénuée de nucléases, dans la colonne avant de procéder à sa centrifugation à 11 000 g pendant 1 minute. La concentration d'ARN obtenue dans ce mélange était d'au moins 50 ng/µl.

À partir de 250 ng de l'extrait d'ARN élué, le spectrophotomètre à microvolume NanoDrop a permis de mesurer la concentration d'ARN en fonction de la longueur d'onde d'un échantillon. De l'ADNc (complémentaire) simple brin a pu être obtenu grâce au kit Applied Biosystems High-Capacity cDNA Reverse Transcription (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, États-Unis). Ce sont les enzymes rétrotranscriptases contenues dans ce kit ont permises la conversion de l'ARN en ADN. Dans les tubes où s'est déroulé la rétrotranscription, la concentration d'ADNc a été ajustée par dilution à 2ng/μL.

Aux tubes d'ADNc fut ajouté le « master mix », une solution contenant des amorces hexanucléotides sens et anti-sens, de l'eau, des Taq polymérase pour amplifier l'ADN, des tampons favorables à l'activité de l'enzyme ainsi que le SYBR Green, un composé aux propriétés fluorescentes se liant aux acides nucléiques. L'efficacité des amorces a été déterminée au début de la procédure via des courbes d'amplification selon la méthode décrite dans les lignes directrices MIQE (Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments) (Bustin et al., 2009). Par la suite, le mixte fut pipeté et environ 37 μl ont été ajouté aux puits des plaques de RPCq. Un autocollant a ensuite été apposé sur la surface des plaques pour les sceller avant qu'elles soient centrifugées. C'est avec l'appareil dédié à la RPCq Ste-pOnePlus Real-Time PCR System (Système de transcription inverse couplée à une réaction d'amplification en chaîne par polymérase) (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, États-Unis) que la quantification fut possible à partir des plaques. La totalité du processus comptait un cycle de 10 minutes à 95 °C, 40 cycles d'une minute à 60 °C et 15 secondes à 90°C.

La moyenne géométrique de trois gènes de références fut calculée afin de diminuer la variabilité calculée en normalisant l'expression relative des gènes étudiés. Les gènes de références utilisés étaient HPRT1 (Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransférase 1), GAPDH (Glyceraldehyde-3-phosphate déshydrogénase) et B2M (Bêta-2-microglobuline).

Des gènes liés à l'inflammation (*Il1b*, *Il6*, *Il10*, *Cxcl1* et *Nlrp3*), à la fibrose (*Tgfb1*, *Col1a* et *Acta2*), au processus de sénescence (*Cdkn2a*, *Cdkn1a* et *Tp53*) ainsi qu'aux canaux ioniques (*Scn5a*, *Cacna1c*, *Kcnq1*, *Ryr2* et *Serca2a*) furent testés. Les amorces, SYBR Green seulement, utilisées pour ces gènes sont identifiés dans le **Tableau 1**. À partir de la moyenne d'expression d'ARNm

mesurée pour les Sham J0, l'expression des différents gènes pour tous les individus de chaque groupe du groupe J0 au J21 fut normalisée à partir de cette moyenne.

Tableau 1 Amorces SYBR Green utilisées durant la RPCq pour chaque gène étudié

Gènes	Types de gènes	Amorces avant	Amorces inverse
<i>Il6</i>	Inflammation	TCGGTTCGTACCCCGATACAG	ACCATAGGAGAGCAGGAGAGC
<i>Il1b</i>	Inflammation	TAGCAGCTTTTCGACAGTGAGG	CCACAGCCACAATGAGTGAC
<i>Cxcl1</i>	Inflammation	ACTCAAGAATGGTCGCGAGG	ACGCCATCGGTGCAATCTAT
<i>Nlrp3</i>	Inflammation	CATGGTGTGCCAGGAAGACA	GTCCACGCTCTCACCTAGAC
<i>Tgfb1</i>	Fibrose	CCATGACATGAACCGACCCT	TGCCGTACACAGCAGTTCTT
<i>Col1a1</i>	Fibrose	CTTTGTGGACCTCCGGCTC	AGGGACCCTTAGGCCATTGT
<i>Acta2</i>	Fibrose	AGCCAGTCGCCATCAGGAAC	CCGGAGCCATTGTCACACAC
<i>Scn5a</i>	Canaux ioniques Na ⁺	CGTCATGGTCATTGGCAACC	TCATCTCCCCATCCTCGTCA
<i>Cacna1c</i>	Canaux ioniques Ca ²⁺	TGCCTCCGAACACTACAACC	CCCCGCACACAATGAAACAG
<i>Kcnq1</i>	Canaux ioniques K ⁺	CGGGTTGGAAGTGTTCGTG	AGAGCGGCATACTGCTCAAT
<i>Ryr2</i>	Canaux ioniques/Libération Ca ²⁺ → Cytoplasme	CACGGAAATGACATCGCGTC	CTCCGTGTCTATGGGGATGC
<i>Serca2a</i>	Canaux ioniques/Capture Ca ²⁺ → Réticulum sarcoplasmique	TAAAATAGAACGCGCCAACGC	CTTCTGGAGCACCCCTCACA
<i>Cdkn2a</i>	Sénescence	GAGCTGCCACTTTGACGTTG	CTACTCTCCTCCGCTGGGAA
<i>Cdkn1a</i>	Sénescence	CTTGTCGCTGTCTTGCACTC	CTTGCAGAAGACCAATCGGC
<i>Tp53</i>	Sénescence	CAGGGACAGCCAAGTCTGTTA	GCGTCTCACGACCTCAGTC

2.1.7 Immunobuvardage de type Western (Western Blot)

Les échantillons de tissus auriculaires droits prélevés furent placés dans un contenant d'azote liquide pour être congelés à la suite du sacrifice. En vue des expériences d'immunobuvardage de type Western, 100 µL d'une solution tampon de lyse fut ajoutée aux tubes contenant entre 30 et 50 mg de tissus auriculaires. Cette solution contenait 150 mM de NaCl, 50 mM de Tris-HCL ajusté à un pH de 7.5, du TritonX-100 0.1 %, du glycérol 10%, du SDS 0.1%, 1 mM de fluorure de phénylméthylsulfonyle (PMSF), 10 µl de Halt™ Protease Inhibitor Cocktail (100X) ainsi qu'un cocktail inhibiteur de phosphatase concentré à 1 %. Par la suite, le contenu des tubes fut homogénéisé au Polytron®.

La quantité de protéines totale présente dans chaque échantillon était mesurée en microgrammes par spectrophotométrie à l'aide de l'appareil Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, États-Unis) ainsi qu'un concentré de réactif colorant (Bio-Rad Protein Assay Dye Reagent Concentrate) se liant aux protéines qui fut ajouté dans les tubes. Il était ainsi possible de déterminer la masse protéique d'un homogénat en fonction de l'absorbance mesurée grâce au NanoDrop.

Dans le but de dénaturer les échantillons protéiques, les tubes furent brièvement vortexés et exposés à une température de 95°C durant 5 minutes grâce au bain sec Isotemp 125 D (Fisher Scientific, Ottawa, ON, Canada). La seule exception étant la protéine COL1A1 qui a nécessité une température de 37°C pour une même durée. Ensuite, 10 µg des échantillons ont été pipetés à partir des tubes avant d'être déposés dans les différents puits d'un gel pré-coulé de polyacrylamide contenant du dodécylsulfate de sodium (SDS). Le SDS a permis de déplier les protéines dénaturées et donc de les faire revenir à leur structure primaire tout en conservant leur poids moléculaire/taille. En fonction du poids des protéines à détecter, la concentration en polyacrylamide variait entre 4-20% pour les protéines plus légères ou 4-15% pour les plus lourdes. Une concentration plus faible permettait d'avoir un maillage plus lâche dans le gel et donc de permettre aux plus grosses protéines de migrer aisément alors qu'une plus forte concentration servait à filtrer de manière à ne laisser passer que les plus petites protéines.

Après avoir connecté des électrodes à la plaque de gel SDS positionnée dans un porte-gel, une tension électrique de 120V a été appliquée sur une durée de 70 minutes. Les protéines ont alors migré vers la charge négative (anode) à différentes vitesses en fonction de leur poids moléculaire, c'est l'électrophorèse SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis). Une fois cette étape complétée, les protéines furent transférées du gel SDS vers des membranes PVDF grâce à une tension électrique de 70V appliquée durant 70 minutes en utilisant un réservoir de transfert de la compagnie Bio-Rad Laboratories. En plus des capacités de liaison aux protéines de ce type de membrane qui permet de garder une distribution semblable des protéines à celle sur le gel SDS, elle fournit également une meilleure détection des protéines à l'aide d'anticorps.

Afin d'éviter qu'il n'y ait de liaisons non-spécifiques d'anticorps, les membranes furent bloquées dans une solution de tris-saline combinée avec du polysorbate 20 (TTBS) et du lait en poudre sans gras ou de l'albumine de sérum bovin (BSA) concentré à 5%. Le choix entre le lait ou le BSA dépend surtout des anticorps utilisés, mais le lait est généralement moins dispendieux et pure que le BSA. Les membranes ont passées 60 minutes dans la solution chauffée à 20-25 °C en étant constamment agitées.

Les membranes furent ensuite incubées avec les anticorps primaires dilués dans du TTBS durant 2 heures avec agitation à 4°C. Après, 4 rinçages espacés de 15 minutes chacun ont servi à enlever les anticorps ne s'étant pas fixé aux protéines présentes sur les membranes. Une deuxième incubation des membranes a été réalisée pendant 1 heure, mais avec les anticorps secondaires conjuguées à de la peroxydase de raifort puis lavées aux 15 minutes à 3 reprises.

Le kit No-Stain™ Protein Labeling Reagent (Invitrogen™, Waltham, MA, États-Unis) compatible avec les membranes de difluorure de polyvinylidène (PVDF) fut également utilisé comme réactif pour le marquage fluorescent de protéines et donc pour permettre leur visualisation. Lors de son utilisation, des liaisons covalentes furent établies entre les réactifs du kit ainsi que les lysines composant les protéines. Le kit contenait trois produits : un « labeling buffer », un activateur (mandélonitrile) ainsi qu'un dérivatiseur (quinoline-2-carboxaldéhyde). L'exposition des membranes au substrat chimioluminescent superSignal™ Western Blot Enhancer a permis d'amplifier la fluorescence des bandes de protéines et donc de faciliter la quantification de leur

intensité lumineuse grâce au logiciel Bio-Rad Image Lab. Finalement, l'expression mesurée pour chaque protéine fut normalisée par rapport à la quantité totale de protéines présentes sur la membrane (voir **Annexe 3**). Cette technique permet de quantifier les niveaux totaux de protéines sur la même membrane que les protéines ciblées. Bien qu'elle soit répandue et efficace, l'utilisation d'une seule protéine de référence comporte des risques de variation de taux dans un tissu (Eaton et al., 2013). Cette variation est amoindrie par la technique de comparaison au taux de protéine total. La visualisation des protéines a été faite via l'utilisation du système d'imagerie Bio-Rad ChemiDoc.

Dans le but d'obtenir un portrait global de la variation dans le temps de protéines clés associées à l'inflammation, la fibrose et certains canaux ioniques, la sélection de protéines à quantifier était la suivante : IL-1 β , COL1A1, AML- α , TGF- β 3, SERCA2A et PLB.

2.1.8 Analyses statistiques

La totalité des données ont été analysées par le logiciel GraphPad Prism. Afin de déterminer si leur distribution était normale ou non, les données des différents paramètres quantifiés furent soumises au test Shapiro-Wilk.

Si les données cumulées par échocardiographies, analyses histologiques, RPCq et immunobuvardage de type Western suivaient une distribution gaussienne, elles étaient par ANOVA univariée (One-Way Analysis of variance). Dans le cas contraire, c'est le test non paramétrique de Wilcoxon-Mann-Whitney qui était privilégié. Les différences au niveau des arythmies induites furent comparées à l'aide d'un test exact de Fisher. Pour les données recueillies à partir de la cartographie optique, elles ont été analysées en utilisant l'ANOVA à 2 facteurs sur mesures répétées (Two-Way Repetitive Analysis of variance). Étant donné que deux variables catégorielles quantitatives ont variées (dans ce cas-ci, la vitesse de conduction et la BCL) et que plusieurs mesures furent prises sur les mêmes individus, cette approche était mieux adaptée pour détecter les différences significatives entre les groupes étudiés.

Ces méthodes d'analyse statistique ont permis de comparer les moyennes entre les groupes (Sham vs LTP) ainsi que les diverses dates de sacrifices (Jour 0 vs 7 vs 14 vs 21) sur la base d'un seul facteur à la fois et donc une seule variable dépendante. Les tests ANOVA univariées et ANOVA à 2 facteurs furent corrigés par des tests post-hoc Tukey ou Bonferroni. Pour chaque date de sacrifice des deux groupes, les résultats furent notés dans les figures sous la forme de moyenne \pm SEM. Les différences entre les groupes et dates de sacrifice étaient considérées comme significatives lorsque les valeurs p calculées étaient inférieures à 0.05 (*), à 0.01 (**), à 0.001 (***) ou à 0,0001 (****), tel qu'indiqué sur les figures et tableaux de la section suivante. Pour ces mêmes différences, les symboles utilisés variaient en fonction des comparaisons. Lorsque les Sham Jour 0 étaient comparés à n'importe quel autre groupe, le symbole était « * ». Quand la comparaison incluait les LTP Jour 0, le « # » étaient utilisés. Enfin, pour une comparaison entre les Sham et les LTP d'une même date de sacrifice, les différences significatives étaient illustrées à l'aide de « @ ».

Enfin, dans le but de détecter et d'exclure les valeurs aberrantes se trouvant parmi les données univariées collectées durant le projet, des tests de Grubbs ont été menés afin d'éviter que des extrêmes significatifs ($\alpha = 0.05$) ne soient pris en compte dans les analyses ultérieures.

Chapitre 3 – Résultats

3.1 Validation du modèle LTP au niveau fonctionnel

3.1.1 Impacts de la ligature sur le tronc pulmonaire

Le rétrécissement partiel du diamètre du tronc pulmonaire généré par la ligature (**Figure 2A**) a entraîné certaines perturbations au niveau de la circulation pulmonaire chez les rats LTP. Comme présenté sur la **Figure 2B**, le sang passant dans le tronc était perturbé par la constriction chez les rats LTP et le sens de sa circulation n'était plus entièrement unidirectionnel. Des turbulences étaient observables par échocardiographie en comparaison avec le flux sanguin des rats Sham grâce à la cartographie « color-flow ».

L'augmentation de pression générée par la LTP était associée à une augmentation du flux sanguin du VD éjecté vers les poumons. Chez les rats LTP, la vitesse maximale que pouvait atteindre le sang était significativement plus élevée pour toutes les dates de sacrifices étudiées. Au 21^e jour post-chirurgie, la vitesse a augmenté jusqu'à une moyenne de $401,4 \pm 16,77$ cm/secondes alors que pour les rats Sham, elle a atteint $104,1 \pm 5,70$ cm/secondes (**Figure 2C**). Le gradient de pression sanguine mesuré de part et d'autre de la valve pulmonaire des rats LTP a lui aussi augmenté substantiellement par rapport aux rats Sham. Dès le 7^e jour, la différence entre les Sham ($2,90 \pm 0,29$ mmHg) et les LTP ($30,16 \pm 1,85$ mmHg) était significative et mettait bien en évidence la résistance contre laquelle le VD devait s'adapter afin d'acheminer suffisamment de sang désoxygéné aux poumons (**Figure 2D**).

D'un point de vue global, la vitesse maximale du flux sanguin et le gradient de pression moyen ont tous les deux augmentés graduellement entre les jours 0, 7, 14 et 21 chez les rats LTP alors que ces paramètres sont plutôt demeurés stables dans le temps chez les Sham.

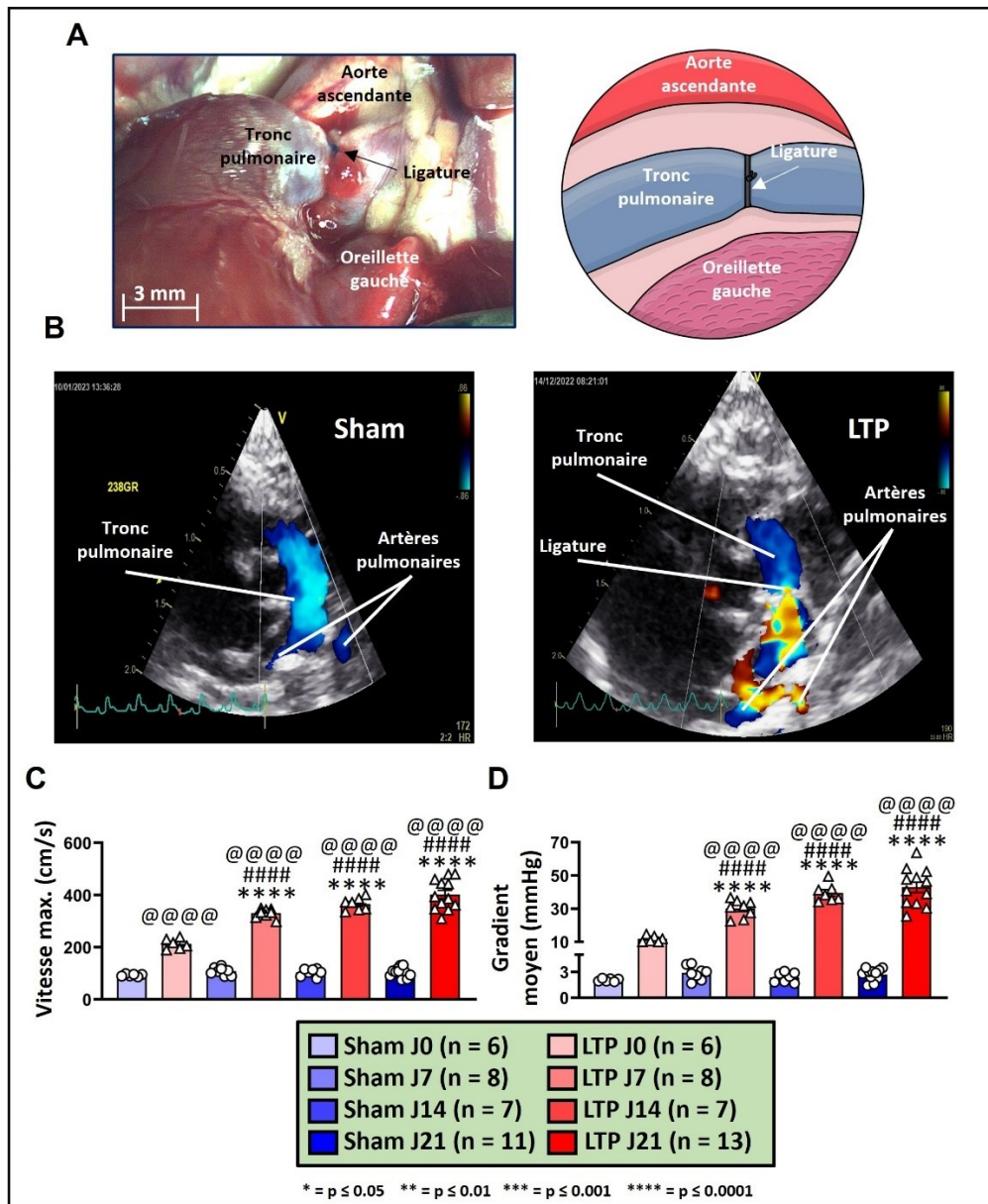


Figure 2 Ligature partielle du tronc pulmonaire et ses effets hémodynamiques

Note. **(A)** Photo (gauche) et schématisation (droite) de la chirurgie de ligature partielle du tronc pulmonaire. **(B)** Visualisation du tronc pulmonaire et des artères associées sur un rat Sham (gauche) et un rat LTP (droite) via une vue parasternale à court axe. Le sang s'éloignant du cœur (ou du transducteur de la sonde) apparaît en bleu et en rouge lorsqu'il s'en approche grâce à la cartographie « color-flow». Les couleurs pâles/jaunâtres correspondent à une forte vélocité du sang et la mosaïque résulte des turbulences du flux sanguin causées par la ligature. **(C)** Mesures de la vélocité sanguine dans le tronc pulmonaire en utilisant un Doppler à ondes continues (OC). **(D)** Le gradient moyen de pression systolique d'un côté à l'autre de la valve pulmonaire, également mesuré par Doppler à OC. (* = Sham J0 vs tous les autres groupes, # = LTP J0 vs autres LTP, @ = Sham JX vs LTP JX)

3.1.2 Changements structurels et fonctionnels du côté gauche du cœur

L'évaluation des effets de la chirurgie sur la fonction ainsi que sur la morphologie du cœur gauche s'est également faite par échocardiographie. Que ce soit au niveau auriculaire ou ventriculaire, les rats LTP n'ont démontré aucune différence significative avec leurs équivalents Sham. D'abord, pour ce qui est de la dimension en millimètres de l'OG en fin de systole (DOGs), les différences entre les groupes sont négligeables. Un sommet significatif a été atteint chez des rats LTP au 14^e jour (7,57 mm) alors que les moyennes de chaque groupe se situaient autour de 5 mm. Pour la dimension de l'OG en fin de diastole (DOGd), elle était un peu plus grande chez les rats LTP, mais sinon le constat fut le même que pour la DOGs (**Figure 3A**).

Du côté du VG, le raccourcissement fractionnaire (RF) a légèrement augmenté chez les rats LTP par rapport aux Sham. En comparant avec le contrôle Sham J0, seuls les rats LTP J7, J14 et Sham J21 ont eu une hausse significative à ce niveau (**Figure 3B**). La fraction d'éjection (FÉ) du VG a démontré des augmentations significatives aux jours 7 et 21 chez les rats LTP par rapport aux valeurs mesurées à J0 (**Figure 3C**). Enfin, l'épaisseur de la paroi antérieure du VG en fin de diastole (ÉPAVGd) chez les rats LTP, n'a pas été significativement modifiée entre les groupes (**Figure 3D**). La chirurgie LTP n'a donc pas eu de conséquences majeures sur la structure et la fonction des cavités cardiaques gauches.

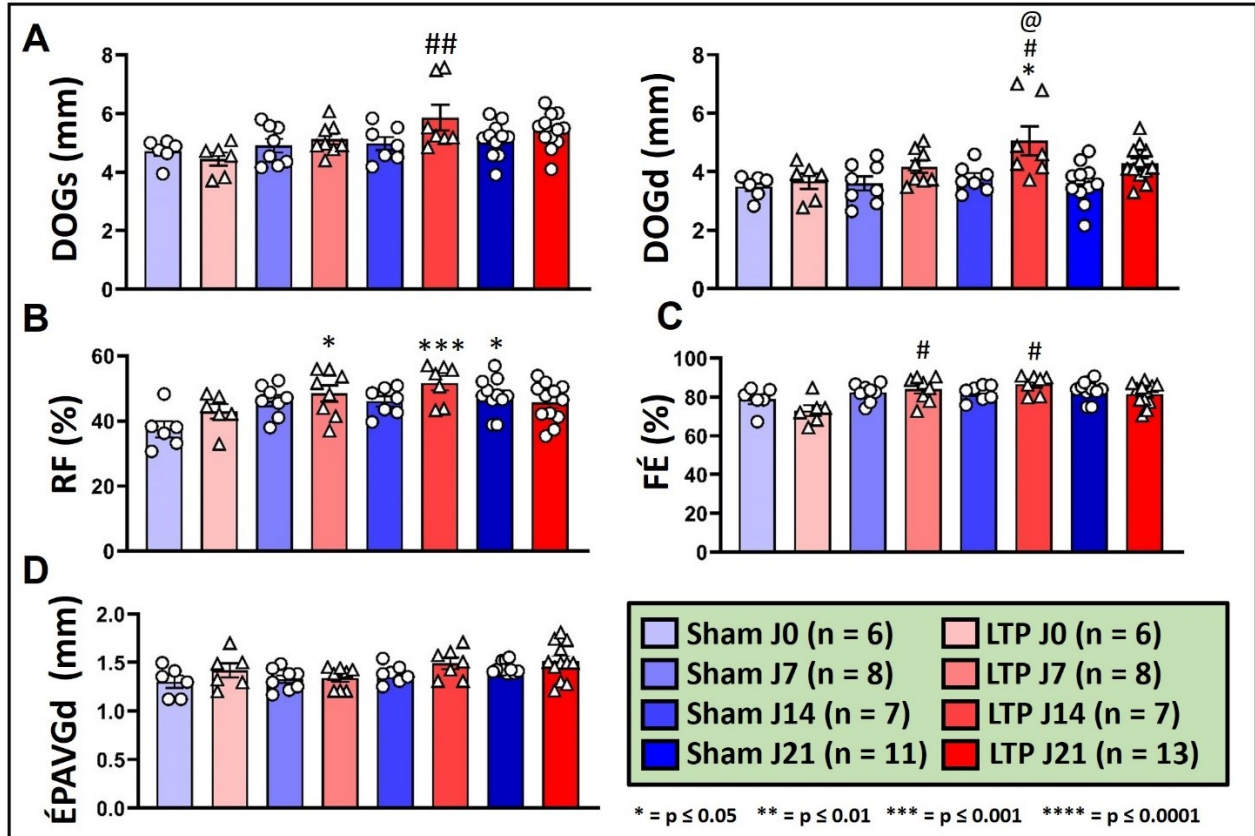


Figure 3 Paramètres morphologiques et fonctionnels du cœur gauche

Note. **(A)** La dimension de l'oreillette gauche (OG) en fin de systole (DOGs) ainsi qu'en fin de diastole (DOGd) n'a que très légèrement varié entre les rats Sham et LTP. **(B)** Le raccourcissement fractionnaire (RF) ventriculaire gauche a légèrement augmenté de manière non significative chez les rats des deux groupes dès le 7e jour. **(C)** La fraction d'éjection (FÉ) du VG est demeurée stable dans le temps chez les rats Sham et LTP, mais a augmenté entre le Jour 0 et le Jour 7. **(D)** Aucun changement significatif observé au niveau de l'épaisseur de la paroi antérieure du VG en fin de diastole (ÉPAVGd). (* = Sham J0 vs tous les autres groupes, # = LTP J0 vs autres LTP, @ = Sham JX vs LTP JX)

3.1.3 Changements structurels et fonctionnels du cœur droit

La circulation pulmonaire étant directement connectée au côté droit du cœur, le remodelage des cavités concernées a été nettement plus marqué. Lors des échocardiographies, une vue parasternale à long axe a permis de mettre en évidence la dilatation importante de l'OD en fin de la systole en quantifiant sa dimension en mm (DODs) ainsi que son aire (AODs). Ces deux paramètres furent significativement augmentés lorsque les rats Sham et LTP d'une même date de sacrifice étaient comparés. Ce fut aussi le cas lorsque tous les groupes étaient comparés aux Sham J0 (**Figure 4A**). D'ailleurs, grâce à une vue apicale de quatre chambres, la **Figure 4B** montre bien comment les chambres cardiaques droites, particulièrement le VD, se sont significativement élargies à la suite d'une accentuation de la post-charge. La perturbation a causé un remodelage structurel et fonctionnel du VD surtout perceptible au niveau de ses parois et de ses capacités contractiles.

Les données présentées dans la **Figure 4C** témoignent de ce remodelage. L'épaisseur de la paroi antérieure du VD en fin de diastole (ÉPAVDd) est beaucoup plus importante chez les rats LTP. La paroi s'est hypertrophiée à chaque date de sacrifice pour les rats LTP jusqu'à ce qu'elle atteigne une épaisseur moyenne de $0,79 \pm 0,04$ mm au J21. À titre comparatif, chez les rats Sham J0, l'épaisseur moyenne de cette même paroi était de $0,45 \pm 0,04$ mm. Elle a donc presque doublé en trois semaines. L'ESPAT a quant à lui connu une baisse significative chez les rats LTP dès le jour de la chirurgie, reflétant un affaiblissement de la fonction ventriculaire droite. Cependant, à partir du 7^e jour, l'ESPAT s'est graduellement mis à augmenter, suggérant une récupération partielle des capacités contractiles de la cavité (**Figure 4D**). Le Td a aussi chuté significativement chez les rats LTP, correspondant à une déformation moins efficace du tissu ventriculaire droit lors de la systole (**Figure 4E**).

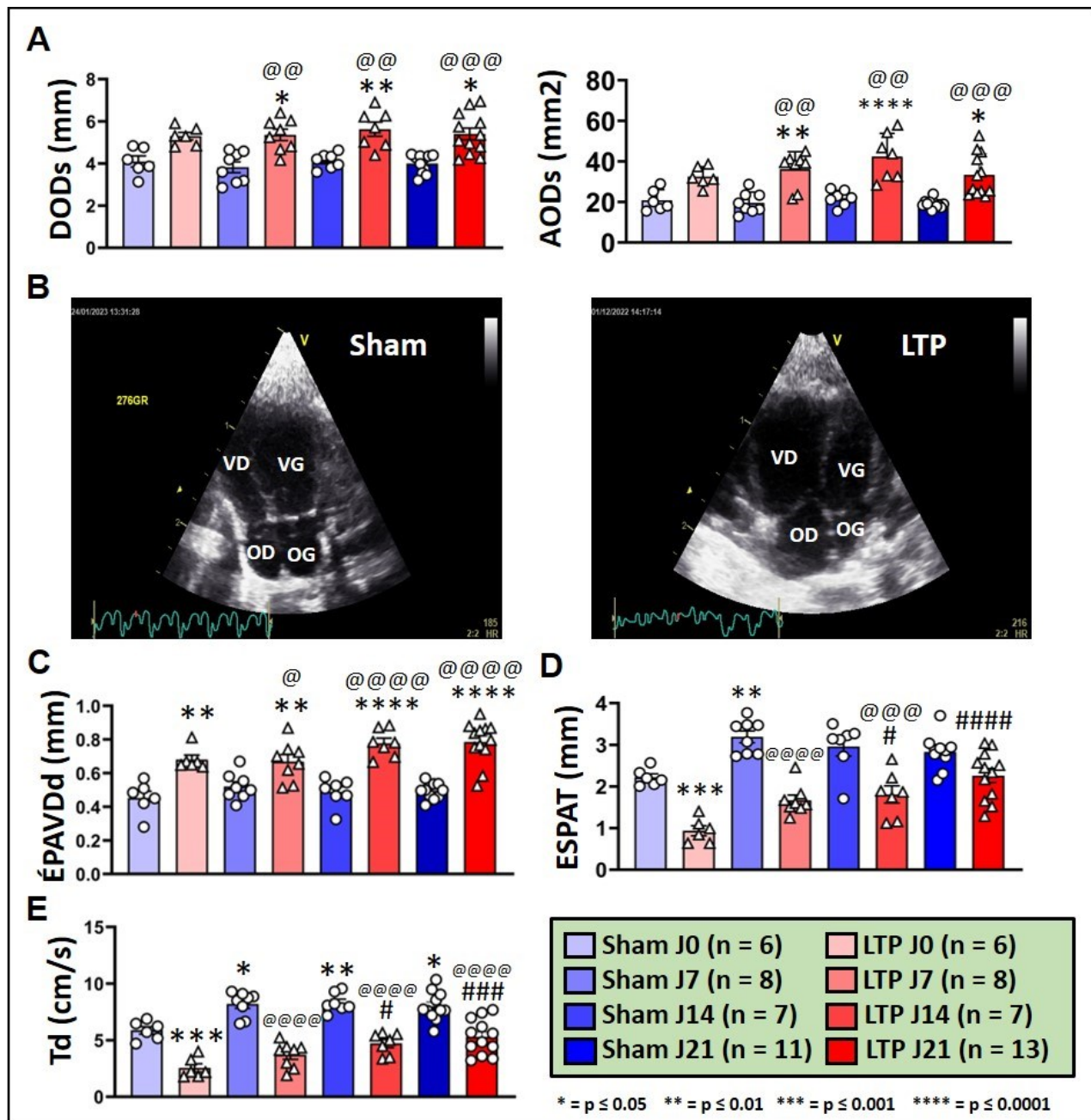


Figure 4 Paramètres morphologiques et fonctionnels du cœur droit

Note. **(A)** La dimension de l'oreillette droite (OD) et l'aire de l'OD en fin de systole (DODs et AODs) sont considérablement plus élevées chez les rats LTP aussi tôt que J0. **(B)** Vue apicale des 4 chambres cardiaques. **(C)** Épaississement significatif de la paroi antérieure du ventricule droit (ÉPAVDd) à la fin de diastole pour les rats LTP vs les rats Sham. **(D)** L'excursion systolique dans le plan annulaire tricuspide (ESPAT) était significativement réduite chez les rats LTP pour chaque jour étudié. **(E)** Diminution marquée de la vitesse de déformation (Td) du VD chez les rats LTP dès le jour de la chirurgie. (* = Sham J0 vs tous les autres groupes, # = LTP J0 vs autres LTP, @ = Sham JX vs LTP JX)

3.1.4 Apparition de régurgitations de la valve tricuspide

Le Doppler à OC a été utilisé en échocardiographie pour étudier les mouvements de la valve tricuspide chez des rats ayant une LTP avec l'ESPAT ainsi que pour visualiser et caractériser les régurgitations tricuspidiennes, un autre paramètre servant à évaluer la fonction générale du VD (**Figure 5A et B**). Pour la caractérisation des fuites de sang de la valve tricuspide vers l'OD, l'aire (mm^2), la vitesse (cm/s), la pression maximale (mmHg) et la pression moyenne (mmHg) ont été mesurées. Par la suite, la moyenne et l'erreur-type de la moyenne furent calculés pour chacun des groupes (**Tableau 2**).

La majorité des rats LTP ont développé des régurgitations tricuspidiennes. Leur degré d'intensité a cependant varié significativement en fonction du temps écoulé depuis la date de leur chirurgie. En portant attention à l'aire couverte par les fuites, une diminution graduelle entre le jour 0 ($17,00 \pm 5,97$) et le jour 21 ($9,23 \pm 1,38$) pour les rats LTP a été observée. À l'inverse, la vitesse avec laquelle le sang était projeté dans l'OD a augmenté dans le temps jusqu'à atteindre un sommet moyen de $349,30 \text{ cm/s}$ chez les rats LTP J21. Lorsqu'il y avait absence de fuite chez un animal, ce dernier n'était tout simplement pas compté dans les calculs de moyennes et d'écart-types. Des tendances similaires furent observées pour ce qui est des pressions maximales et moyennes chez les rats LTP. Du côté des rats Sham, très peu de régurgitations furent répertoriées. Lorsqu'il y en avait, leur aire, leur vitesse et la pression des fuites étaient minimales en comparaison avec celles des LTP (**Tableau 2**). Chez les Sham J0, les mesures de vitesse, de pression maximale et de pression moyenne des fuites lors des échocardiographies n'ont été possibles que chez un seul rat des deux ayant présenté des fuites, cela explique l'absence d'écart-type dans le tableau pour ces paramètres.

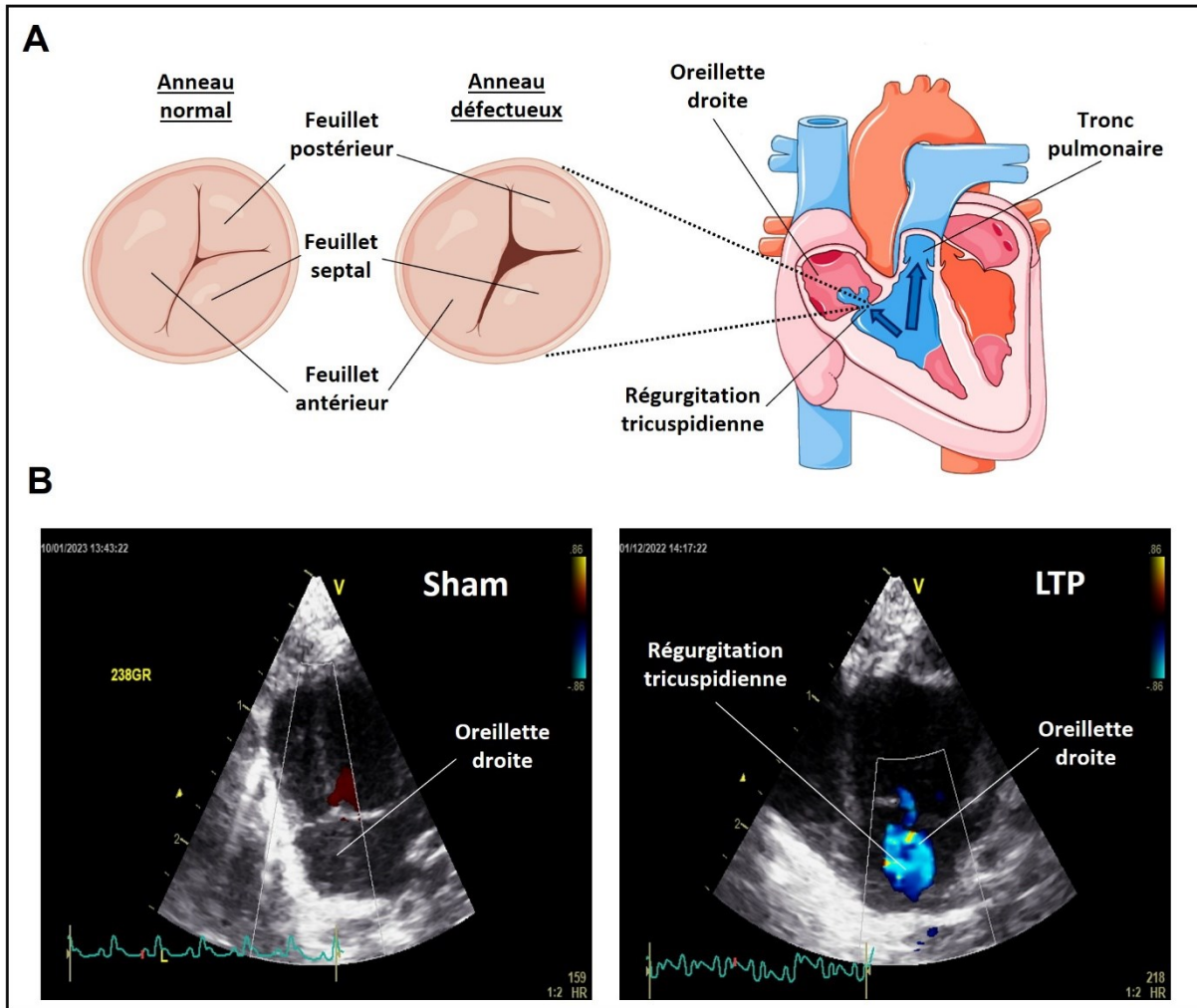


Figure 5 Régurgitation de la valve tricuspide lors d'une MCD

Note. **(A)** Schématisation d'un anneau tricuspide chez un rat sain ainsi qu'un anneau défectueux chez un rat LTP dont les trois feuillets ne s'accrochent pas entièrement en raison d'une dilatation trop importante du VD (gauche). Une contraction du VD en présence d'une MCD peut causer un reflux de sang dans l'OD via une valve tricuspide non-hermétique. C'est ce qu'on qualifie de régurgitation tricuspide (droite). **(B)** Visualisation d'une régurgitation de sang dans l'OD chez un rat LTP (droite).

Tableau 2 Caractérisation des régurgitations tricuspidiennes

Groupe	Chirurgie	Aire (mm ²)	Vélocité (cm/s)	Pression max (mmHg)	Pression moyenne (mmHg)
Jour 0	Sham	6.88 ± 1.41	200.00	15.97	11.90
	LTP	17.00 ± 5.97	181.20 ± 17.33	13.73 ± 2.43	9.23 ± 1.38
Jour 7	Sham	5.10 ± 1.73	280.00	31.31	25.70
	LTP	14.91 ± 2.94	310.70 ± 10.46 (**)	37.45 ± 2.50	29.41 ± 2.97 (*)
Jour 14	Sham	2.65 ± 0.53	242.90	23.61	18.63
	LTP	13.12 ± 3.83	325.40 ± 29.98 (**)	43.65 ± 6.84 (*)	31.99 ± 4.88 (**)
Jour 21	Sham	1.50	7.90	2.50	1.28
	LTP	8.74 ± 2.32	349.30 ± 22.63 (***, @@@)	53.95 ± 7.00 (***, @)	36.39 ± 4.51 (***, @)

Note. Moyenne et erreur-type de la moyenne pour l'aire, la vélocité (vitesse), la pression maximale détectée et la pression moyenne détectée pour les régurgitations tricuspidiennes analysées aux différentes dates de sacrifice. (n : ShamJ0 = 2, LTPJ0 = 6, Sham J7 = 3, LTPJ7 = 7, ShamJ14 = 2, LTPJ14 = 7, ShamJ21 = 1, LTPJ21 = 11) (* = Sham J0 vs tous les autres groupes, # = LTP J0 vs autres LTP, @ = Sham JX vs LTP JX; * = p ≤ 0.05 ** = p ≤ 0.01 *** = p ≤ 0.001 **** = p ≤ 0.0001)

3.2 Remodelage inflammatoire

3.2.1 Élévation modeste de l'expression génique de marqueurs inflammatoires

La RPCq a servi à quantifier l'expression d'ARNm associée à divers gènes. Pour les gènes impliqués dans l'inflammation à un niveau cardiaque, l'interleukine-1 bêta (*Il1b*) représentait une cible de choix étant donné son implication dans les phénomènes inflammatoires entourant la FA. L'expression d'*Il1b* était généralement plus élevée chez les rats LTP dans le tissu auriculaire droit pour une même date de sacrifice, mais sans qu'il n'y ait de différence significative. Cela suggère une activation modeste de la cascade de signalisation impliquant NFκB dans les CM auriculaires.

Cela fait d'ailleurs écho aux niveaux d'expression de *Nlrp3* mesurés dans cette expérience compte tenu de l'importance de l'action de NFκB sur l'assemblage de l'inflammasome NLRP3. Une progression similaire a été observée dans l'OD pour *Nlrp3* : élévation substantielle du jour 0 à 7 suivie d'une diminution jusqu'au jour 21. L'expression dans l'OG s'est vue réduite chez les Sham aux jours 7 et 14 par rapport au jour 0. Néanmoins, celle des LTP est presque toujours demeurée inférieure à celle du contrôle.

L'expression du gène *Cxcl1* n'a pas variée significativement, que ce soit dans l'OD ou l'OG. En revanche, elle fut en moyenne plus élevée pour les rats LTP jours 0 et 14 dans l'OD et jours 14 et 21 dans l'OG, suggérant une stimulation ponctuelle de son expression par ANGII en raison de l'élévation de pression sanguine dans la circulation pulmonaire.

Le gène de l'interleukine-6 (*Il6*) a connu une hausse importante au jour 0 dans l'OD avant de diminuer dès le jour 7 chez les rats LTP. Il est alors possible de penser que ce type d'interleukine n'a été que très peu sollicité dans la pathologie présente dans le modèle animal à l'étude ou qu'il ne l'a été que momentanément.

Pour l'interleukine-10 (*Il10*), son expression était particulièrement réduite au jour 7, mais elle a remonté non-significativement aux jours 14 et 21 dans les deux oreillettes. Les propriétés anti-inflammatoires de cette cytokine permettent de supposer que des mécanismes de résolution se

sont potentiellement mis en marche au courant des 21 jours d'HTAP auxquels les animaux du projet ont été soumis (**Figure 6**).

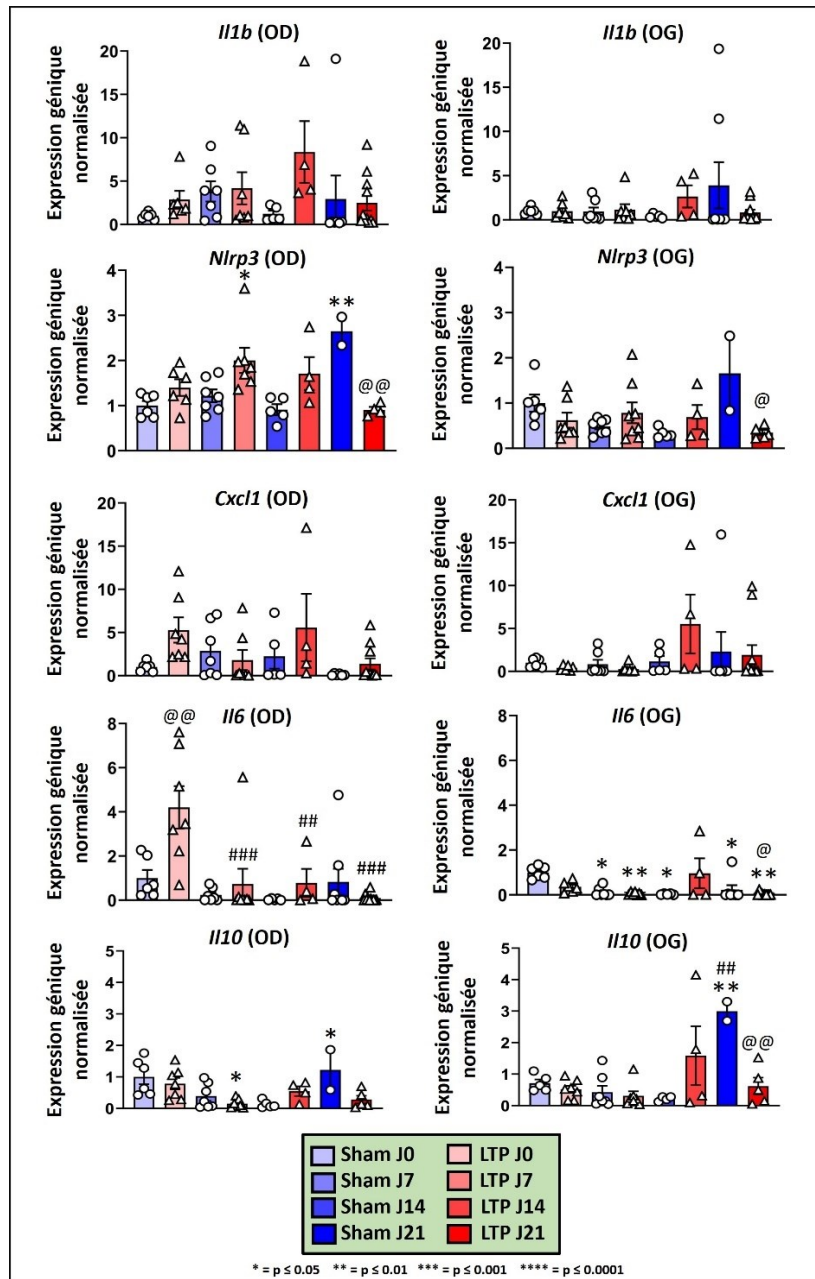


Figure 6 Expression de marqueurs associés aux processus inflammatoires

Note. Quantification de l'expression d'ARN messager de marqueurs associés aux processus inflammatoires (*Il1b*, *Il6*, *Il10*, *Cxcl1*, *Nlrp3*) par RPCq. L'expression des marqueurs est normalisée par rapport à la moyenne géométrique de trois gènes de références et mesurée en comparaison avec l'expression moyenne chez les Sham J0 standardisée à 1. Des tissus auriculaires droits et gauches provenant de rats Sham et LTP pour chaque date de sacrifice furent utilisés. (* = Sham J0 vs tous les autres groupes, # = LTP J0 vs autres LTP, @ = Sham JX vs LTP JX) 21.

3.2.2 Niveaux d'expression stables d'une protéine pro-inflammatoire

Par immunobuvardage de type Western, l'expression de l'interleukine-1 bêta (IL-1 β), une protéine associée aux processus pro-inflammatoires, fut quantifiée à partir de tissu auriculaire droit de rats Sham et LTP. La quantification de la protéine NLRP3 était également prévue, mais les bandes obtenues sur les membranes PVDF étaient trop faibles visuellement pour être mesurées efficacement. Globalement, aucune différence significative n'en est ressortie, mais des tendances sont tout de même notables pour les rats LTP aux jours 14 et 21 en raison d'une expression plus faible (**Figure 7**).

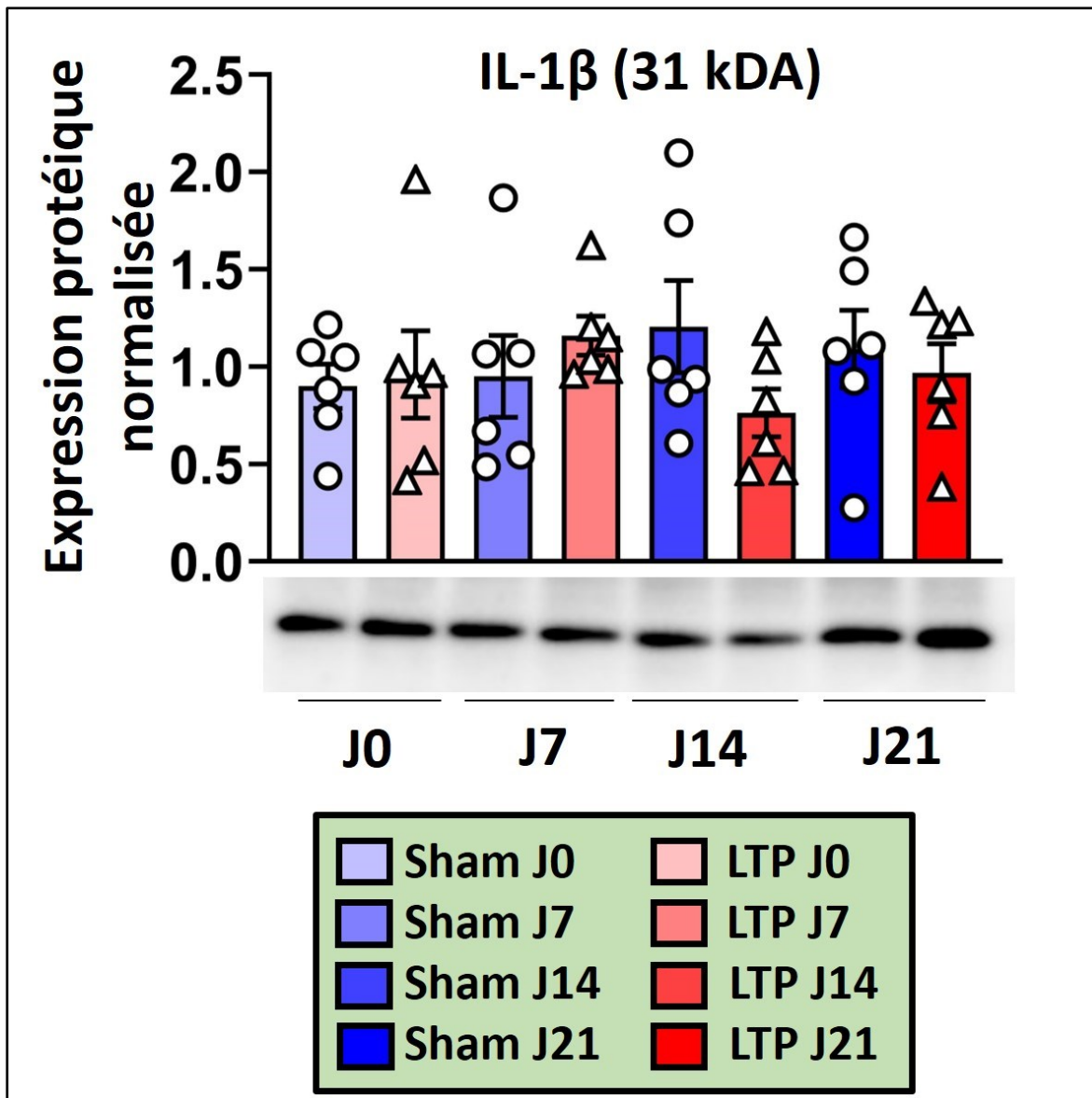


Figure 7 Expression de la protéine IL-1 β

Note. Quantification de l'expression protéique d'IL-1 β à partir d'une préparation de tissus auriculaires droits prélevés sur des rats Sham et LTP aux différentes dates de sacrifice. Les niveaux d'expression de la protéine sont indiqués sous forme d'unités arbitraires calculées selon la densité des bandes de protéines spécifiques détectées durant l'immunobuvardage de type Western. De plus, l'expression de cette protéine est normalisée par rapport à la quantité totale de protéines présentes dans le tissu.

3.3 Remodelage structurel et fibrotique

3.3.1 Évolution du tissu fibrotique cardiaque chez les rats LTP

L'élévation soudaine et chronique de la pression sanguine du côté droit du cœur a généré un remodelage tissulaire majeur des cavités cardiaques. Tel que vu précédemment (**Figure 4A**), l'OD a développé une dilatation conséquente chez les rats LTP. Cette attaque a déclenché certains processus inflammatoires se soldant notamment par la formation de fibrose au sein même des parois de la cavité. La fibrose est fréquemment associée à la FA en raison du remodelage électrique qu'elle induit.

Après avoir analysé les tissus auriculaires droits et gauches de rats appartenant aux différents groupes, Sham ou LTP, il a été possible de représenter la progression du tissu fibrotique d'une semaine à l'autre. Pour ce qui est de l'OD, dès le jour de la chirurgie le taux de fibrose était nettement plus élevé chez les rats LTP. Alors que pour les rats LTP J0 (14,52%), J7 (13,24%) et J14 (14,91%) le taux tournait plutôt autour de 14 % en moyenne, les rats LTP J21 avaient un taux moyen de 21,73%. En revanche, c'est chez les rats LTP J21 qu'a été observée la plus grande variation d'un animal à l'autre. La plus grande quantité de fibrose retrouvée dans l'OD d'un LTP J21 couvrait 42,14% du tissu analysé. Pour les rats Sham, cela s'est maintenu entre 4,0 et 5,5% (**Figure 8A**).

En ce qui concerne l'OG, une évolution assez similaire a été remarquée. C'est-à-dire que le tissu fibrotique auriculaire était stable d'une date de sacrifice à l'autre pour les rats LTP, sauf à J21 où il y avait davantage de variations. Le taux le plus élevé mesuré pour ces animaux était de 21,3%.

Aucun Sham n'a présenté plus que 10% de fibrose moyenne dans son tissu auriculaire gauche (**Figure 8B**). En plus des coupes d'oreillettes, des coupes de cœurs transversales furent colorées au trichrome de Masson. Sans les avoir analysées aussi foncièrement que les oreillettes, elles ont fourni un aperçu visuel du remodelage structurel et tissulaire s'étant déroulé dans le VD : la dilatation prononcée de la cavité et l'insertion de tissu fibrotique dans sa paroi (**Figure 8C**).

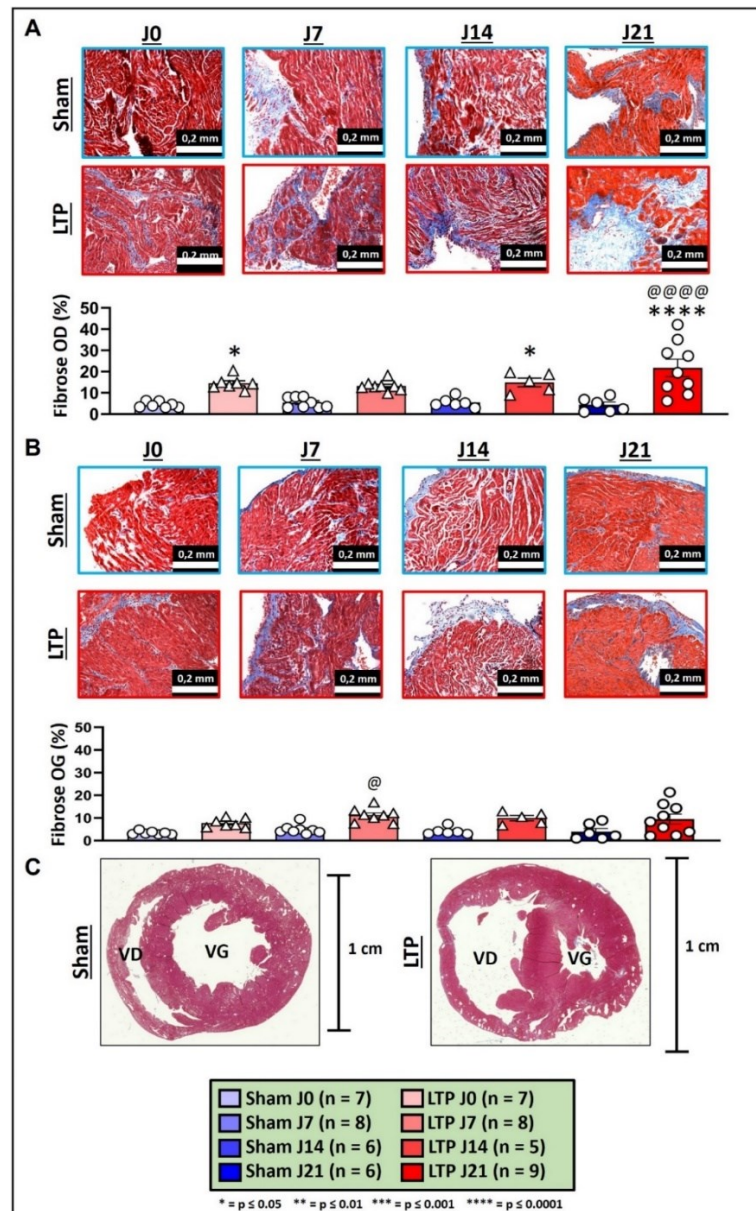


Figure 8 Progression et quantification de la fibrose auriculaire gauche et droite

Note. Analyse histologique de tissus d'oreillettes droites (OD) **(A)** ainsi que d'oreillettes gauches (OG) **(B)** colorés au trichrome de Masson. Le pourcentage de tissu fibrotique a été mesuré et représenté sous forme de graphique à barres afin de constater la progression de la fibrose d'une date de sacrifice à une autre. **(C)** Coupes transversales de cœurs colorés au trichrome de Masson montrant la dilatation de la cavité ventriculaire droite (VD) ainsi que l'insertion de fibrose dans ses parois. (* = Sham J0 vs tous les autres groupes, # = LTP J0 vs autres LTP, @ = Sham JX vs LTP JX)

3.3.2 Expression accrue de gènes pro-fibrotiques au niveau auriculaire droit chez les rats LTP

Trois gènes impliqués dans la formation ou associés à la fibrose furent analysés par RPCq. D'abord, l'intérêt d'étudier *Tgfb1*, gène du facteur de croissance transformant bêta 1, vient du fait qu'il contribuerait à l'hypertrophie cardiaque en facilitant l'expansion du tissu par une amplification de la synthèse de protéines comme le collagène de type I ou III. *Tgfb1* a vu son expression augmenter de manière significative dans l'OD des rats LTP aux jours 0 et 7 par rapport aux rats Sham. Le point le plus haut a été atteint au 7^e jour post-chirurgie. Dans l'OG, le taux d'expression pour les rats LTP est demeuré similaire entre les dates de sacrifice alors que pour les Sham, il fut un peu plus réduit de manière non-significative aux jours 7, 14 et 21 par rapport au jour 0.

Le gène *Col1a1* qui est responsable de la synthèse de collagène de type 1, la protéine la plus abondante dans la MEC, a lui aussi été quantifié par RPCq. Dans les deux oreillettes, l'expression du gène *Col1a1* a connu son point le plus élevé chez les rats LTP au jour 7 suivi d'une baisse aux jours 14 puis 21. Ce fut aussi le cas pour les rats Sham, mais la baisse fut moins marquée dans l'OD.

Enfin, le gène *Acta2* est responsable de la production d'AML- α , une protéine aux capacités contractiles indiquant la présence de myofibroblastes au sein du tissu auriculaire. Son expression a augmenté significativement dans l'OD aux jours 0 et 7 chez les rats LTP tandis que pour les Sham, il y a eu une hausse marquée au 7^e jour à un niveau semblable à celui des LTP pour la même date, mais sans qu'elle ne soit statistiquement significative. Le niveau d'expression pour les Sham des dates suivantes a ensuite diminué. Pour les deux groupes, les taux d'ARNm sont demeurés stables aux jours 14 et 21. Pour ce qui est de l'OG, il n'y a pas eu de différence significative décelée pour *Acta2* car les valeurs sont demeurées plutôt équivalentes à celles calculées au jour 0. Les niveaux les plus bas furent mesurés au 21^e jour pour les rats LTP et Sham (**Figure 9**).

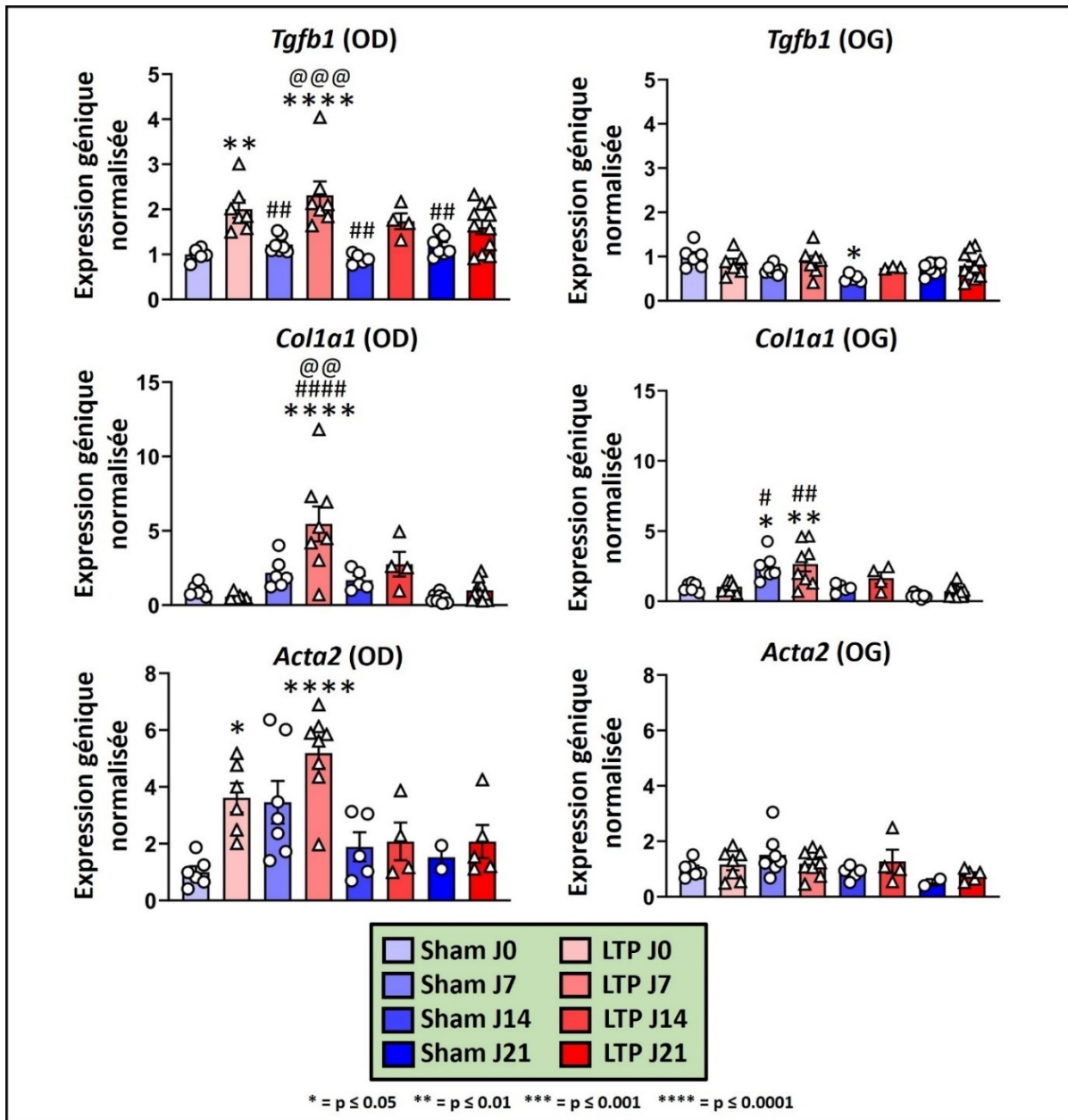


Figure 9 Expression de marqueurs associés à la fibrose

Note. Quantification de l'expression d'ARN messager de marqueurs associés à la formation de fibrose (*Tgfb1*, *Col1a1*, *Acta2*) par RPCq. L'expression des marqueurs est mesurée en comparaison avec l'expression moyenne observée chez les Sham J0 (standardisée à 1). Des tissus auriculaires droits et gauches provenant de rats Sham et LTP pour chaque date de sacrifice furent utilisés. (* = Sham J0 vs tous les autres groupes, # = LTP J0 vs autres LTP, @ = Sham JX vs LTP JX).

3.3.3 Variations des niveaux de protéines impliquées dans la fibrose au niveau de l'oreillette droite chez les rats LTP

Le niveau d'expression de trois protéines liées à la fibrose fut mesuré. Pour COL1A1, l'expression était initialement plus basse pour les rats LTP que pour les Sham au jour 0, mais a augmenté de façon non significative au jour 7. Par la suite, le niveau d'expression a diminué graduellement du jour 14 au jour 21 tout en se stabilisant autour des valeurs mesurées chez les rats Sham d'une même date. Le niveau d'expression d'AML- α n'a pas connu de hausse substantielle chez les rats LTP, mais s'est maintenu au-dessus de celui des rats Sham à partir du 7^e jour. Le point le plus élevé a été atteint au jour 21 sans que la différence ne démontre de significativité statistique. En comparant les rats Sham et LTP aux différentes dates de sacrifice, l'expression protéique de TGF β 3 est toujours demeurée inférieure chez les rats LTP. Cette tendance a été particulièrement marquante, sans être significative, aux jours 7 et 14 (**Figure 10**).

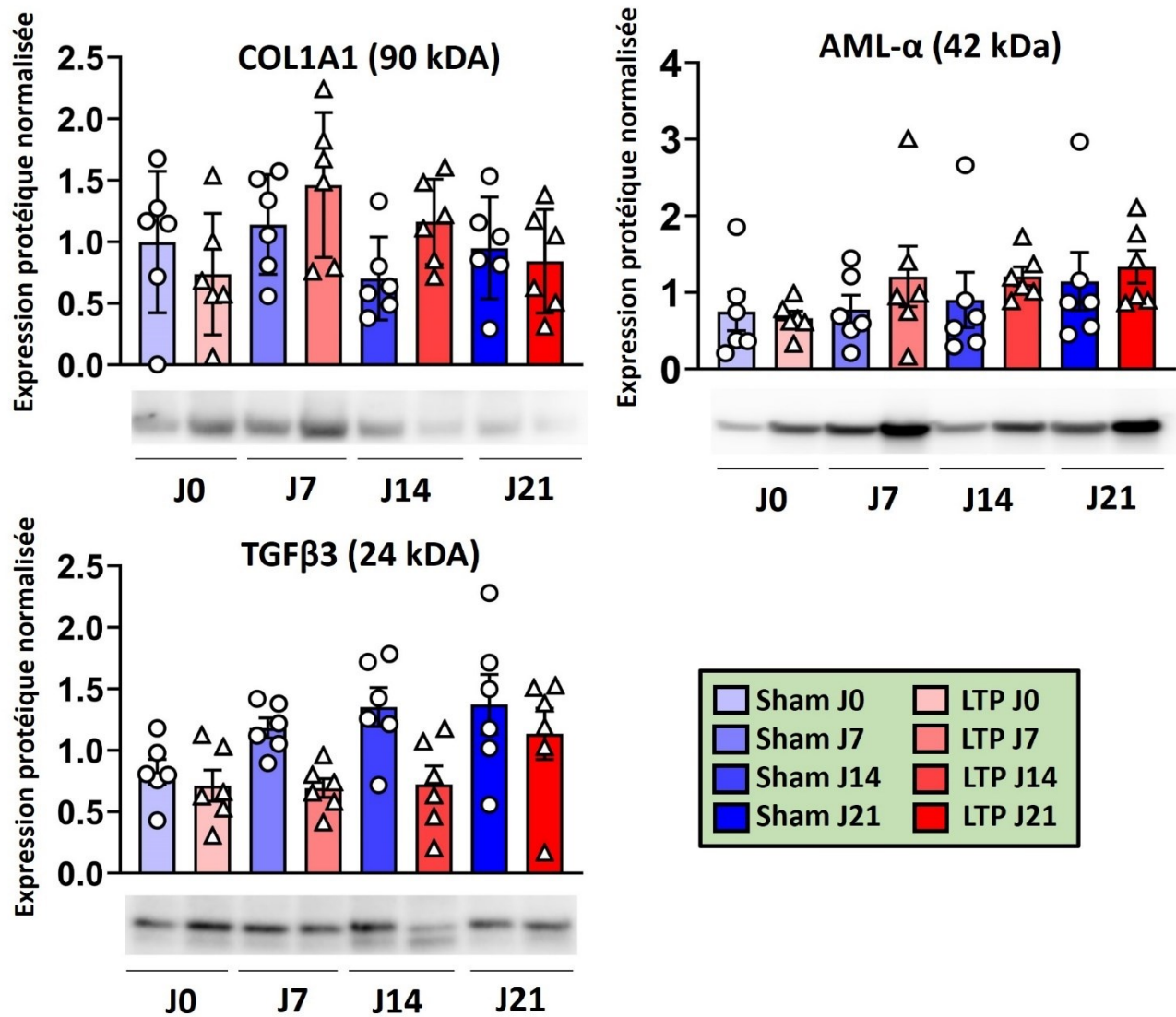


Figure 10 Expression de protéines associées à la fibrose

Note. Quantification de l'expression protéique de COL1A1, AML- α et TGF β 3 à partir d'une préparation de tissus auriculaires droits prélevés sur des rats Sham et LTP aux différentes dates de sacrifice. Les niveaux d'expression des protéines sont indiqués sous forme d'unités arbitraires calculées selon la densité des bandes de protéines spécifiques détectées durant l'immunobuvardage de type Western. De plus, l'expression de ces protéines est normalisée par rapport à la quantité totale de protéines présentes dans le tissu.

3.4 Activation de l'expression de gènes contribuant à l'état sénescence

Pour ce qui est des gènes dont l'expression est associée au processus de sénescence cellulaire, le premier d'entre eux, *Cdkn1a*, n'a démontré de différence significative qu'au jour 0 pour les rats LTP, dans l'OD seulement. Cela dit, pour une même date de sacrifice, un niveau d'expression moyen supérieur a été détecté chez les rats LTP, toujours dans l'OD. Pour *Cdkn2a*, aux 7^e et 14^e jours post-chirurgie, l'expression a augmenté de manière significative dans l'OD des rats LTP. Cela coïncide avec la vulnérabilité croissante aux épisodes arythmiques auriculaires enregistrés chez les rats LTP pour ces dates de sacrifice. Une élévation semblable, mais moins prononcée fut observée dans l'OG, mais seulement au 7^e jour. Pour finir, l'expression de *Tp53* fut significativement supérieure dans l'OD chez les rats LTP, avant de diminuer graduellement du jour 0 au jour 21, indiquant un possible déclin de l'état sénescence au sein du tissu auriculaire de ces rats. Les variations entre les groupes furent beaucoup plus marquées dans l'OD que dans l'OG, même si les écarts sont significatifs dans la cavité gauche également (**Figure 11**).

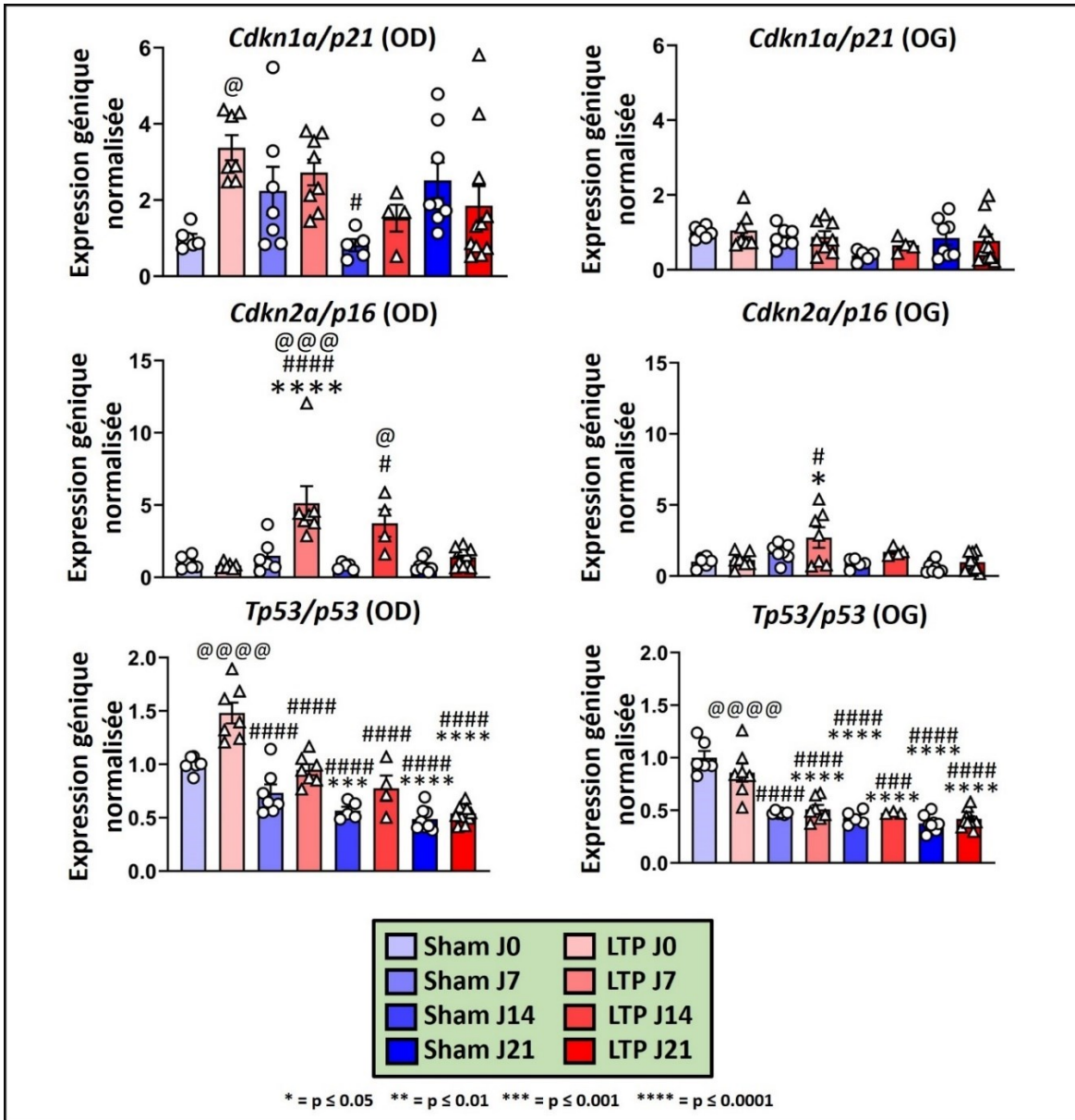


Figure 11 Expression de marqueurs associés à la sénescence cellulaire

Note. Quantification de l'expression d'ARN messager de marqueurs associés à la sénescence cellulaire (*Cdkn1a*, *Cdkn2a*, *Tp53*) par RPCq. L'expression des marqueurs est normalisée par rapport à la moyenne géométrique de trois gènes de références et mesurée en comparaison avec l'expression moyenne observée chez les Sham au jour 0 standardisée à 1. Des tissus auriculaires droits et gauches provenant de rats Sham et LTP pour chaque date de sacrifice furent utilisés. (* = Sham J0 vs tous les autres groupes, # = LTP J0 vs autres LTP, @ = Sham JX vs LTP JX)

3.5 Phénomènes arythmiques

3.5.1 Mesure de différents paramètres de l'ECG

Après avoir analysé les enregistrements ECG obtenus au terme des études électrophysiologiques pour chaque rat Sham et LTP, il fut possible de déterminer comment variaient les diverses ondes de l'ECG entre les deux groupes. Les mesures ont été réalisées selon leur représentation à la **Figure 12A**. La fréquence cardiaque des animaux est demeurée stable au-dessus de 250 bpm pour toutes les dates de sacrifices dans les deux groupes. Elle fut cependant en moyenne moins élevée chez les rats LTP par rapport aux Sham. L'écart moyen LTP/Sham le plus grand était au 21^e jour avec une différence d'environ 43 bpm (**Figure 12B**).

Les analyses des intervalles RR et PR, du complexe QRS et segment QT n'ont démontré aucune différence significative entre les groupes à l'exception des rats Sham et LTP au 21^e jour. En revanche, certaines tendances sont observables. Par exemple, l'intervalle PR pour les rats LTP aux jours 0, 7 et 21 fut légèrement plus long que celui des Sham.

Pour l'onde P, deux de ses paramètres furent mesurés: la durée et l'amplitude. D'abord, l'étude de sa durée n'a pas permis de déceler de différences considérables entre les groupes. C'est plutôt son amplitude qui a varié davantage. En effet, l'amplitude de l'onde P a diminué graduellement entre les jours 0 et 21 pour les rats Sham et LTP. Aux jours 7 et 14, l'amplitude était plus haute pour les rats LTP que Sham alors que l'inverse fut constaté au jour 21. Afin d'apprécier l'écart qui s'est créé dans le temps, il est pertinent de noter que l'amplitude la plus faible a été de 0,056 mV chez un rat LTP J21 alors que la plus élevée a été de 0,516 mV pour un Sham J0 (**Figure 12C**).

3.5.2 Vulnérabilité croissante dans le temps au déclenchement d'arythmies auriculaires

Les stimulations électriques générées via l'utilisation d'un cathéter transoesophagien durant les séances d'études électrophysiologiques ont servi à évaluer le pourcentage de déclenchement d'arythmies auriculaires chez les rats. En se fiant à l'ECG fourni par les électrodes placées au

niveau de leur peau, il était possible de constater s'il y avait de la FA, du FIA ou si le rythme sinusal était maintenu après chaque stimulation (**Figure 13A**). Tel que mentionné dans la méthode, le cathéter était positionné le plus près possible de l'OD (**Figure 13B**).

Parmi tous les animaux ayant fait l'objet de séances d'électrophysiologie, la quasi-totalité des arythmies auriculaires déclenchées par les stimulations ont eu lieu chez les rats LTP. De plus, la majorité des rats LTP pour chaque date de sacrifice a eu de la FA, du FIA, ou les deux lors d'un même enregistrement. Plus spécifiquement, des phénomènes arythmiques ont été observés chez 50% des rats LTP J7 (3 FA + FIA et 1 FIA/8), 54% des rats LTP J14 (4 FA/7) et 77% des rats LTP J21 (3 FA et 7 FA + FIA/13). Donc, en avançant dans le temps après leur chirurgie, les animaux sont devenus de plus en plus vulnérables aux arythmies auriculaires. Dans le groupe des rats Sham, un seul rat a démontré des signes d'arythmies au jour 7 (12,50%) (**Figure 13C**).

En plus de la fréquence, un autre aspect du profil arythmique de ces animaux qui s'est intensifié en fonction du temps depuis la date de la chirurgie est la durée des épisodes de FA. Entre le 7^e jour et le 21^e, la durée moyenne de FA a passé de $1,84 \pm 0,69$ secondes à $98,26 \pm 69,33$ secondes. Même si cela a généralement duré entre 1 et 4 secondes pour la majorité des rats LTP J21, certains ont eu des arythmies plus soutenues. La fibrillation ayant persisté le plus longtemps a duré près de 10 minutes et ce, malgré des tentatives pour ramener l'animal à un rythme sinusal par défibrillation. Concernant l'unique Sham ayant eu une arythmie, celle-ci a duré un peu plus de 2 secondes (**Figure 13D**).

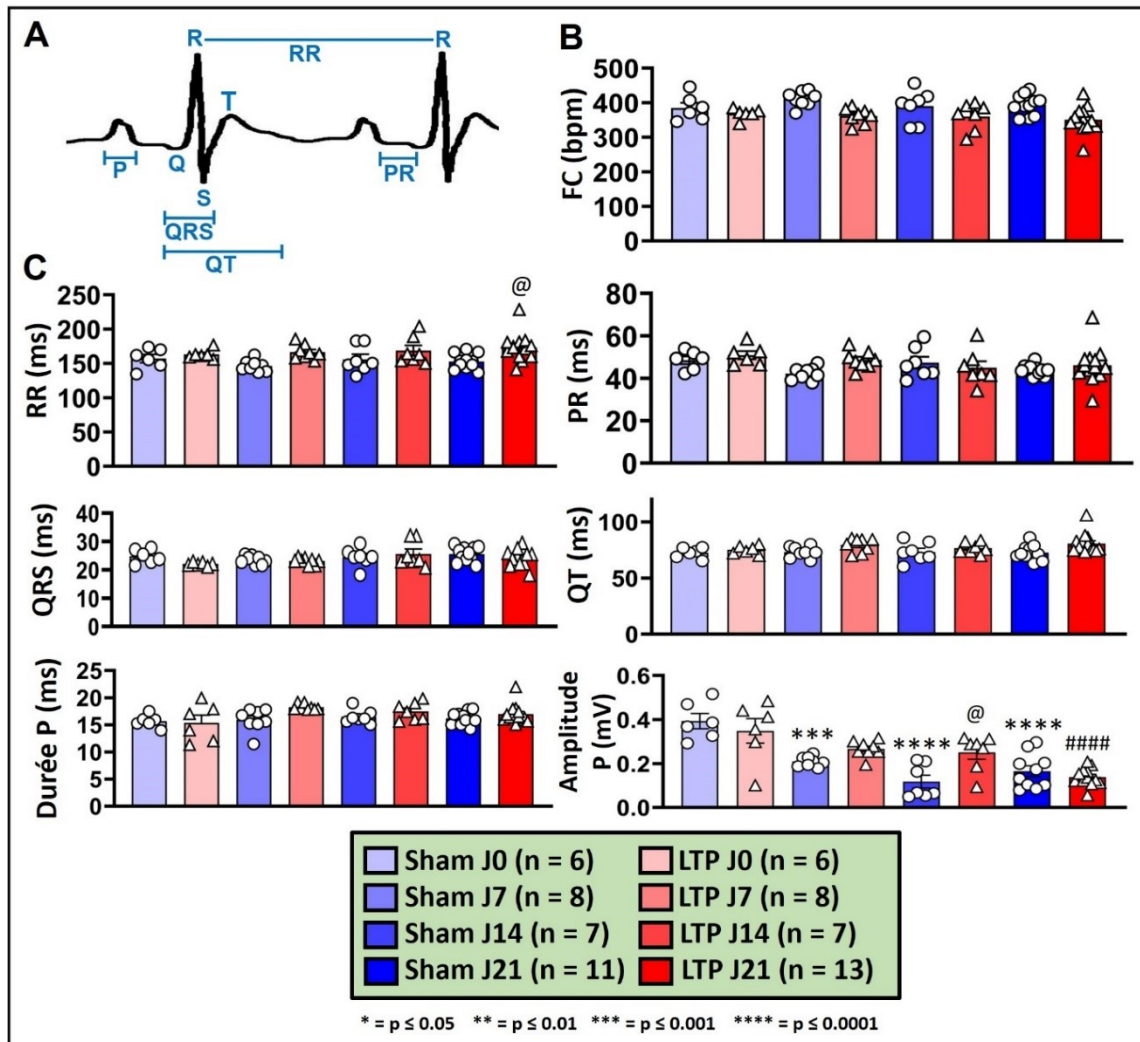


Figure 12 Fréquence cardiaque et ondes mesurées sur l'électrocardiogramme (ECG)

Note. **(A)** Schématisation d'un ECG de surface typique présentant les différentes ondes caractéristiques d'un cycle cardiaque ainsi que les paramètres mesurés. **(B)** Fréquence cardiaque (FC). **(C)** Différents paramètres de l'ECG mesurés en millisecondes (ms) : intervalle RR, intervalle PR, durée du complexe QRS, intervalle QT, durée de l'onde P. Également, l'amplitude de l'onde P a été mesurée en mV. (* = Sham J0 vs tous les autres groupes, # = LTP J0 vs autres LTP, @ = Sham JX vs LTP JX)

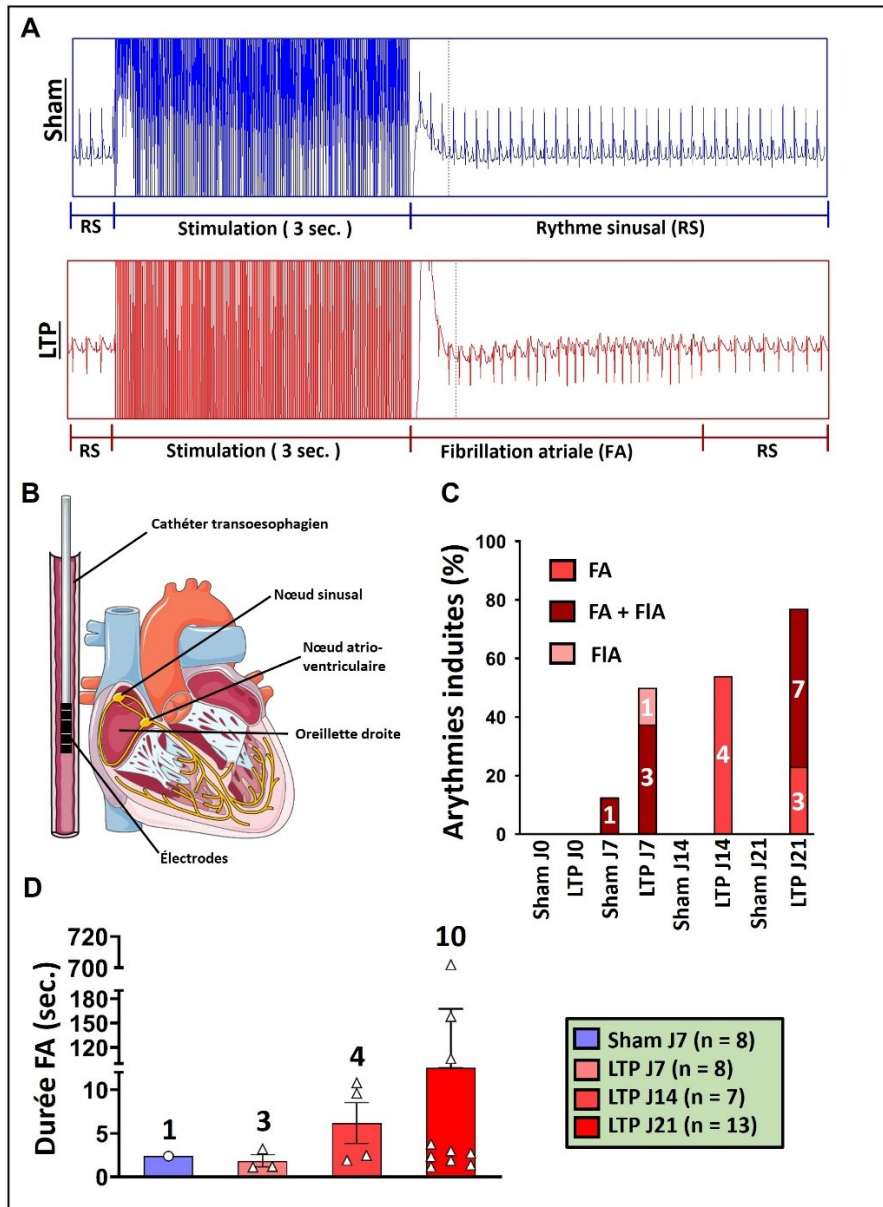


Figure 13 Étude électrophysiologique et susceptibilité aux arythmies auriculaires

Note. **(A)** ECG observés lors des études électrophysiologiques. Stimulation électrique de 3 secondes pour chaque animal. **(B)** Schématisation du positionnement du cathéter transoesophagien lors des études électrophysiologiques. **(C)** Fréquences (en %) des arythmies induites dans chaque groupe entre FA (Fibrillation auriculaire), FIA (Flutter auriculaire) et FA + FIA. **(D)** Durée moyenne des épisodes de FA enregistrés à la suite de stimulation chez les groupes Sham J7, LTP J7, LTP J14 et LTP J21. (* = Sham J0 vs tous les autres groupes, # = LTP J0 vs autres LTP, @ = Sham JX vs LTP JX)

3.5.3 Mise en place d'un profil pro-arythmique observable par cartographie optique de l'oreillette droite

En plus des données obtenues par études électrophysiologiques, la cartographie optique de l'OD des rats Sham et LTP a permis de caractériser les changements des propriétés électriques *ex vivo*. Pour les deux groupes, chaque date de sacrifice comptait six individus.

À la suite des analyses, le premier constat est que l'activité électrique de l'OD observée par fluorescence a été fortement désorganisée chez les rats LTP. Cela se traduit par une période d'activation prolongée ainsi que de multiples déviations du signal électrique, notamment causés par la dilatation de l'oreillette et la formation de blocs de conduction. Pour ces raisons, la dépolarisation complète de l'OD est retardée. Le phénomène s'est également accentué dans le temps à partir de la date de chirurgie initiale (**Figure 14**).

Une analyse ANOVA à deux facteurs a révélé que la vitesse de conduction électrique avait variée significativement chez les rats LTP jour 21 pour différentes DCB. Cette tendance n'a pas été observée dans le cas des rats Sham. Par rapport aux rats Sham au jour 0, les LTP au jour 21 avaient une vitesse de conduction nettement réduite. Une différence similaire avec les rats LTP jour 0 pour des DCB de 200 et 100 ms fut notée. Les rats LTP jour 7 ont présenté une vitesse de conduction significativement supérieure aux rats LTP jour 21 pour des DCB de 200 et 100 ms (**Figure 15A**).

La durée moyenne du potentiel d'action à 80% de repolarisation (DPA80) a aussi été calculée pour les deux groupes. Encore une fois, rien de substantiellement différent entre les dates de sacrifices pour ce qui est des rats Sham. Cependant, les rats LTP jour 21 ont vu leur DPA80 prolongée significativement par rapport aux Sham jour 0 pour les DCB de 250, 200 et 100 ms. De plus, à une DCB de 250 ms, le DPA80 des LTP jour 21 a subi une hausse significative en comparaison avec celles des rats LTP jour 0, jour 7 et jour 14 (**Figure 15B**).

À l'instar de ce qui a été réalisé *in vivo* sur les rats, des stimulations électriques furent effectuées afin d'évaluer la susceptibilité au déclenchement d'épisodes de FA pour des cœurs installés sur des systèmes Langendorff et perfusés par une solution comblant les besoins physiologiques de l'organe.

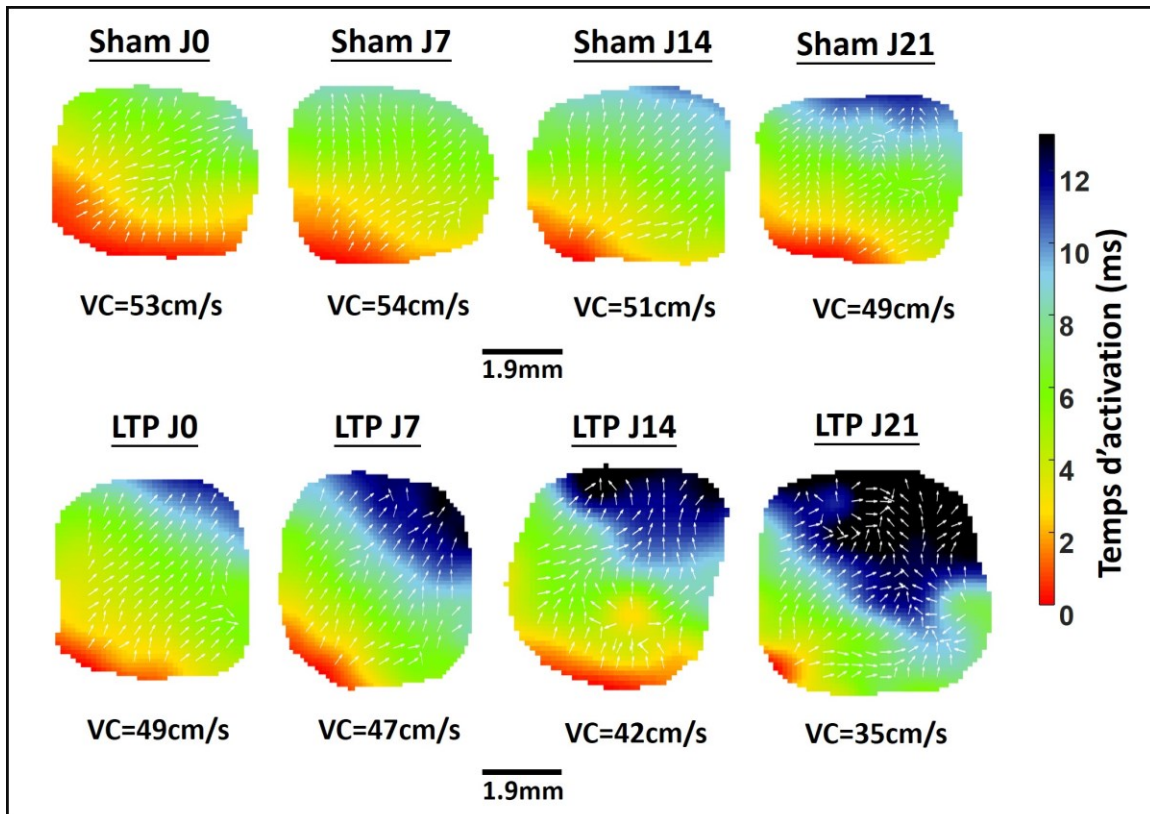


Figure 14 Propagation électrique dans l'oreillette droite

Note. Carte d'activation d'OD stimulées avec une DCB (Durée de cycle de base) de 100 ms. Les flèches blanches indiquent les vecteurs de conduction électriques et la couleur correspond au temps nécessaire avant l'activation d'une région donnée.

En suivant un protocole de stimulation similaire à celui employé pour les rats, de la FA fut observée pour chaque date de sacrifices pour les cœurs provenant de rats LTP. Plus précisément, 16.70% des LTP jour 0, 50.00% des LTP jour 7, 83.30% des LTP jour 14 et 83.30% des LTP jour 21 ont démontré de la FA suivant les stimulations. Ces résultats décrivent donc une tendance semblable à celle observée *in vivo*, à l'exception du plateau entre les jours 14 et 21. Du côté des rats Sham, 16.70% des rats aux jours 0, 7 et 14 ont eu des épisodes de FA (**Figure 16A**). En ce qui concerne la durée des FA enregistrées, elles ont graduellement augmenté d'une date de sacrifice à la suivante chez les rats LTP. La durée des épisodes a particulièrement varié aux jours 14 et 21 par rapport au jour 7. Par exemple, un rat LTP jour 21 a eu de la FA durant 6000 ms alors que pour

un autre, cela a duré 200 ms. Le nombre limité de FA provenant de rats Sham n'a pas permis de déceler une quelconque tendance (**Figure 16B**).

Enfin, l'évaluation de la durée de la période réfractaire effective (PRE) a démontré qu'elle était plus longue chez les rats LTP que Sham. Néanmoins, cette hausse est demeurée négligeable sauf pour le jour 21 où elle était significativement supérieure à celle des rats Sham jour 0 et 21 et LTP jour 0, coïncidant ainsi avec la vulnérabilité aux FA de ce groupe (**Figure 16C**).

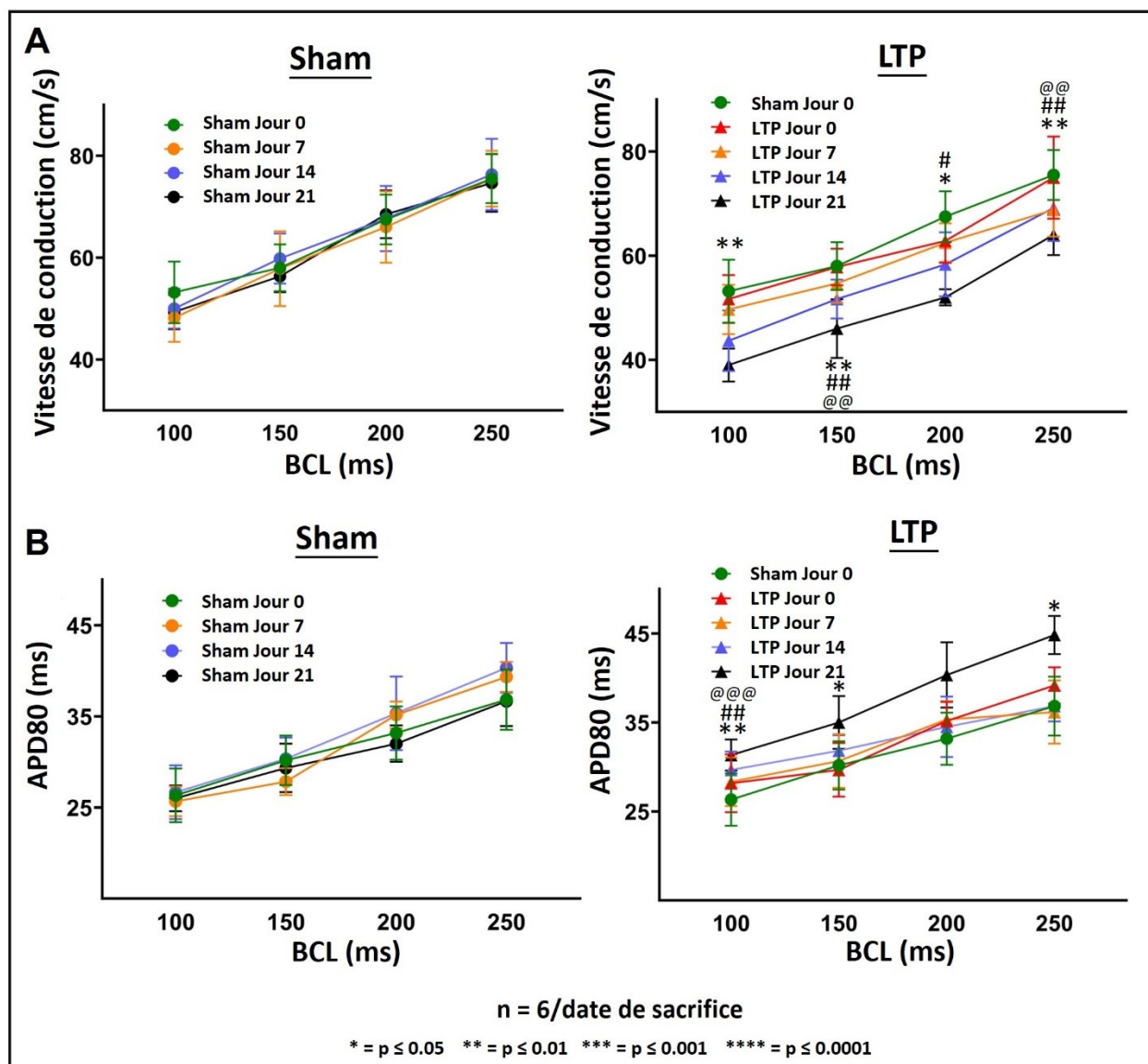


Figure 15 Transmission électrique dans l'oreillette droite

Note. **(A)** Vitesse de conduction électrique moyenne dans l'OD de rats Sham (gauche) et LTP (droite) à des DCB de 250, 200, 150 et 100 ms. **(B)** Durée moyenne du potentiel d'action à 80% d'une repolarisation complète (DPA80) dans l'OD de rats Sham (gauche) et LTP (droite) à des DCB de 250, 200, 150 et 100 ms. (* = Sham J0 vs tous les autres groupes, # = LTP J0 vs autres LTP, @ = Sham JX vs LTP JX)

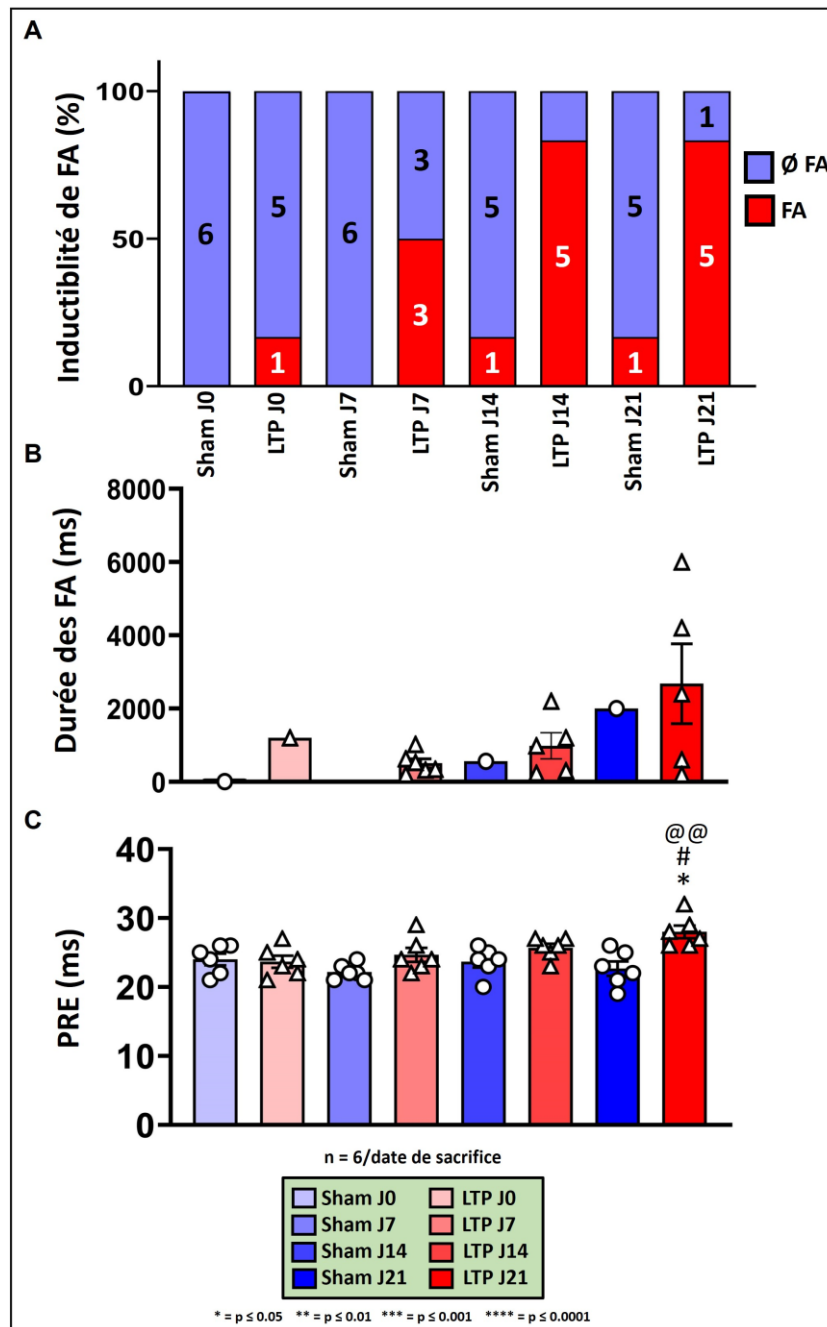


Figure 16 Fibrillations auriculaires et prédisposition *ex vivo*

Note. **(A)** Pourcentage d'individus pour une date de sacrifice dont le cœur a présenté de la FA après avoir été stimulé électriquement. **(B)** Durée des épisodes de FA répertoriées. **(C)** Durée des périodes réfractaires effectives (PRE) calculée chez les rats Sham et LTP aux différentes dates de sacrifice. (* = Sham J0 vs tous les autres groupes, # = LTP J0 vs autres LTP, @ = Sham JX vs LTP JX)

3.5.4 Fluctuations des niveaux d'expression de gènes liés aux canaux ioniques ainsi qu'à la machinerie calcique intracellulaire

Une autre catégorie de gènes pertinente à la question d'étude est celle des gènes associés à la synthèse de canaux ioniques jouant un rôle dans la prédisposition d'un individu à la FA. Premièrement, le gène *Scn5a* a connu son niveau d'expression d'ARNm le plus haut dans l'OD au jour 0 pour les rats LTP avant d'ensuite être plus bas que celui des Sham des autres groupes pour les jours de sacrifice suivants. Rien à signaler dans le tissu de l'OG à l'exception d'une hausse de l'expression chez les rats Sham au 21^e jour. Ce gène code pour une sous-unité alpha du canal sodique cardiaque Nav1.5 associé au déclenchement du potentiel d'action des CM. Pour *Cacna1c*, une hausse significative de son expression chez les rats Sham par rapport aux LTP dans l'OD pour une même date de sacrifice fut remarquée, surtout au jour 7. L'écart était moins prononcé dans l'OG. À l'instar du premier gène mentionné, *Cacna1c* code lui aussi pour une sous-unité alpha, mais pour des canaux calciques Cav1.X qui jouent un rôle dans la régulation des contractions sarcomériques. L'expression de *Kcnq1* dans l'OD s'est vu être réduite chez les rats LTP en comparaison avec les Sham dès le jour 0 puis elle a remonté au jour 21 à un niveau proche de celui des Sham pour la même date de sacrifice. Important de mentionner aussi que les Sham aux jours 7, 14 et 21 ont présenté des niveaux significativement plus hauts que celui des LTP et Sham au jour 0. Le portrait global dans l'OG est ressemblant, mais les écarts sont moins prononcés. *Kcnq1* code pour le canal potassique Kv7.1, un des responsables de la repolarisation membranaire.

Le gène *Ryr2* code pour le récepteur de la ryanodine 2 (RYR2), un canal ionique localisé sur la membrane du réticulum sarcoplasmique (RS) des CM permettant de libérer des ions Ca²⁺ de celui-ci afin d'alimenter la machinerie contractile. Dans l'OD, *Ryr2* a vu son expression diminuer de manière significative chez les rats LTP aux jours 0 et 7 par rapport aux Sham avant de remonter. Dans l'OG, le seul constat notable est que les Sham aux jours 7 et 14 ont démontré un niveau d'expression significativement plus élevé que les LTP et Sham jour 0. Finalement, une diminution substantielle de l'expression de *Serca2a* fut observée dans l'OD des rats LTP aux jours 0, 7 et 14. Le niveau mesuré pour les rats LTP au jour 21 était significativement supérieur à celui des LTP jour

0, près du niveau des Sham. Du côté de l'OG, une tendance à la baisse a été observée pour ce même gène pour les jours 14 et 21 chez les rats LTP, sans changement significatif (**Figure 17**).

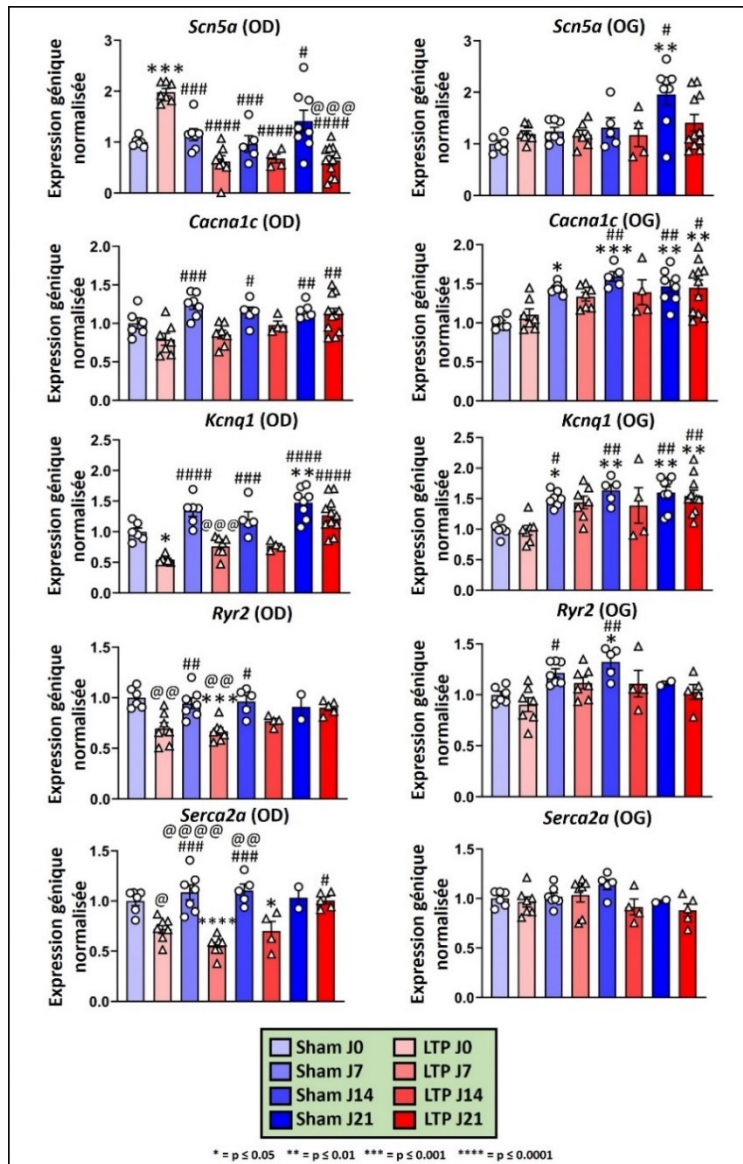


Figure 17 Expression de marqueurs associés à la synthèse de canaux ioniques

Note. Quantification de l'expression d'ARN messager par RPCq de marqueurs associés aux canaux ioniques participants au PA des cardiomyocytes (*Scn5a*, *Cacna1c*, *Kcnq1*) ainsi que dans la gestion du calcium intracellulaire (*Ryr2*, *Serca2a*). L'expression des marqueurs est normalisée par rapport à la moyenne géométrique de trois gènes de références et mesurée en comparaison avec l'expression moyenne observée chez les Sham au jour 0 standardisée à 1. Des tissus auriculaires droits et gauches provenant de rats Sham et LTP pour chaque date de sacrifice furent utilisés. (* = Sham J0 vs tous les autres groupes, # = LTP J0 vs autres LTP, @ = Sham JX vs LTP JX)

C'est ce gène *Serca2a* qui est à l'origine de la synthèse de la pompe ATPase du réticulum sarcoplasmique de type 2A (SERCA2a). Cette protéine, à l'inverse de RYR2, va interioriser les ions Ca^{2+} vers l'intérieur du RS à partir du cytosol des CM.

3.5.5 Réduction du taux de protéines de la machinerie calcique dans l'oreillette droite chez les rats LTP

Enfin, le niveau d'expression de deux protéines jouant un rôle majeur dans les échanges calciques entre le milieu intracellulaire des CM et leur RS fut quantifié. Pour SERCA2a, l'expression aux jours 7 et 14 a été nettement réduite par rapport aux Sham de ces dates en plus d'être significativement inférieure à celle du jour 0 chez les rats LTP. Les niveaux aux jours 0 et 21 sont restés semblables, mais ils furent réduits en comparaison avec les Sham des mêmes dates. Le phospholambane (ou PLB) est une protéine transmembranaire située dans le RS des CM. Son activité est régulée par sa phosphorylation et elle contrôle l'inhibition de SERCA2a. Chez les rats LTP, son expression est restée légèrement plus basse que celle des Sham pour toutes les dates de sacrifice sans qu'aucune tendance ne soit observable pour cette protéine (**Figure 18**).

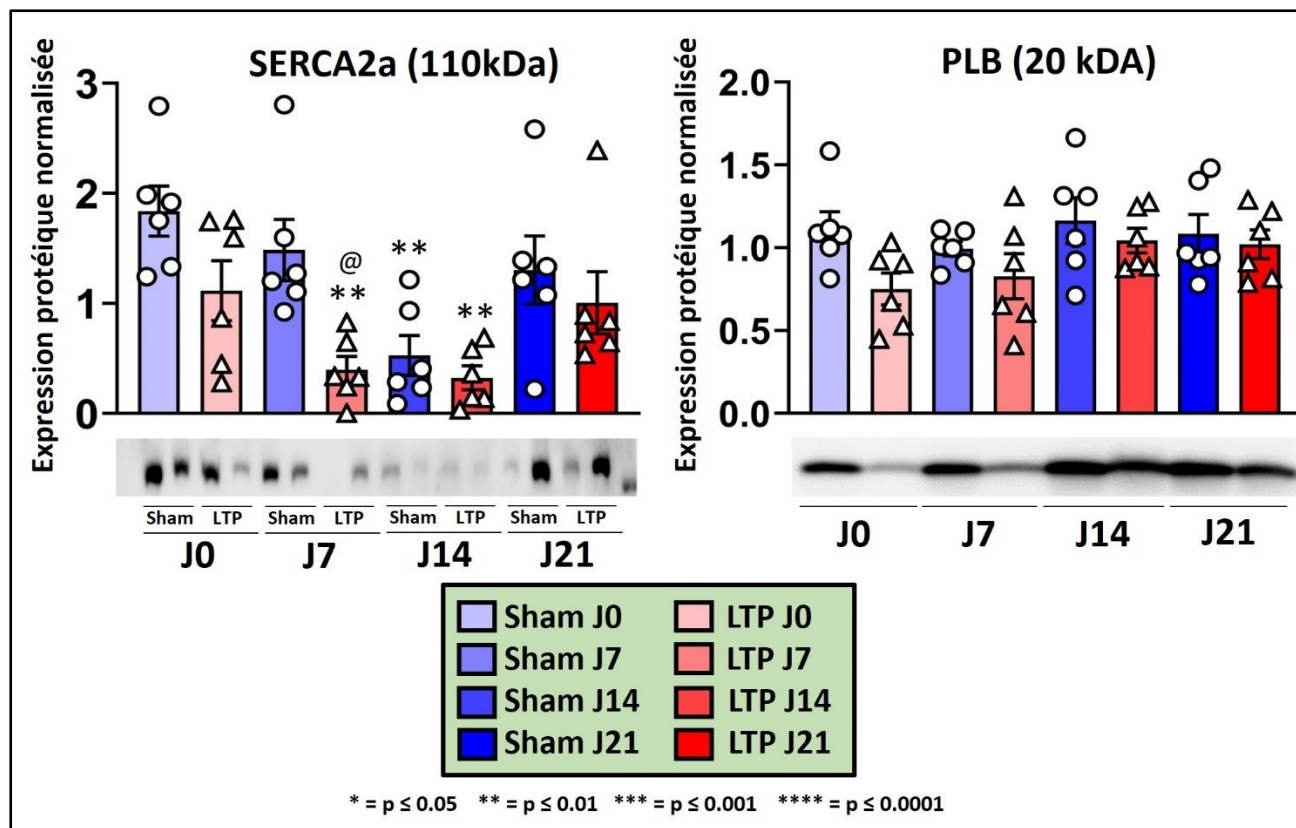


Figure 18 Expression de protéines associées à la machinerie calcique

Note. Quantification de l'expression protéique de SERCA2a et PLB à partir d'une préparation de tissus auriculaires droits prélevés sur des rats Sham et LTP aux différentes dates de sacrifice. Les niveaux d'expression des protéines sont indiqués sous forme d'unités arbitraires calculées selon la densité des bandes de protéines spécifiques détectées durant l'immunobuvardage de type Western. De plus, l'expression de ces protéines est normalisée par rapport à la quantité totale de protéines présentes dans le tissu. (* = Sham J0 vs tous les autres groupes, # = LTP J0 vs autres LTP, @ = Sham JX vs LTP JX)

Chapitre 4 – Discussion

4.1 Principales découvertes

Le caractère novateur de ce projet s'appuie sur deux axes principaux : l'analyse de paramètres structurelles, électrophysiologiques et moléculaires sur une échelle temporelle ainsi que l'étude de l'apparition de phénomènes arythmiques auriculaires conséquemment à la mise en place chirurgicale d'une MCD. Alors que l'étude d'Hirata et al. s'en tenait essentiellement à la caractérisation du remodelage structurel et du profil fibrotique, l'étude présentée ici s'est intéressé à ces variables pour une fenêtre temporelle différente, mais également à la caractérisation sur plusieurs niveaux d'un substrat arythmogène auriculaire d'origine inflammatoire et/ou fibrotique (Hirata et al., 2015)

À la lumière des données collectées dans le cadre de cette étude, il est possible d'affirmer que la chirurgie LTP réalisée sur les rats a généré l'apparition de symptômes associés aux MCD ainsi qu'un remodelage morphologique, fonctionnel et électrique du cœur droit.

De façon plus spécifique, les analyses ont permis d'identifier 1) une dilatation des cavités cardiaques droites ainsi qu'une hypertrophie du VD; 2) des régurgitations conséquentes de la valve tricuspide dans l'OD; 3) une diminution des capacités contractiles du VD; 4) une augmentation de l'expression génique de marqueurs inflammatoires tels que *Il1b* et *Nlrp3* et de marqueurs fibrotiques comme *Tgfb1* et *Col1a1*; 5) une accentuation du tissu fibrotique au sein des tissus auriculaires et ventriculaires droits; 6) une vulnérabilité croissante dans le temps aux arythmies auriculaires accompagnée d'un prolongement des épisodes; 7) un remodelage électrique significatif incluant un prolongement de la PRE, un ralentissement de la conduction et une augmentation de la DPA80 favorisant la création d'un substrat arythmogène dans l'OD ; 8) une réduction de l'expression génique de canaux ioniques liés à l'électrophysiologie du cœur (*Scn5a*, *Kcnq1*, *Serca2a*, entre autres); 9) une élévation de la quantité d'ARNm de gènes associés au processus de sénescence cellulaire comme *Cdkn1a*, *Cdkn2a* et *Tp53*; 10) une réduction de l'expression de la protéine SERCA2a liée à la machinerie calcique.

D'un point de vue temporel, ces mêmes paramètres ont variés différemment en fonction des dates de sacrifice. À partir du jour de la ligature, les changements morphologiques et tissulaires du cœur ont eu tendance à s'aggraver dans le temps, atteignant leur paroxysme au jour 21 (**Figure 19**). Cela a notamment indiqué une détérioration de la fonction du cœur et de l'intégrité du tissu cardiaque droit affectée par l'amplification de la post-charge. Un constat similaire a pu être fait quant à la fréquence et la durée des épisodes qui ont augmentés dans le temps. Entre les jours 0 et 21, les paramètres de conductibilité électrique de l'OD se sont empirés et l'organisation du circuit électrique est devenue de plus en plus chaotique et désorganisée. Les taux d'ARNm de marqueurs d'inflammation ont majoritairement été à leur plus haut point au jour 14 tandis que ceux liés à la fibrose ont eu leur pic d'expression au 7^e jour. L'expression des gènes de canaux ioniques était au plus bas au jour 0 et a graduellement augmenté d'une date de sacrifice à l'autre. Pour les marqueurs de sénescence, c'est surtout au jour 7 que l'expression a connu une hausse significative.

Sans être statistiquement significatifs, d'autres variables à l'étude ont démontré des écarts prononcés entre les groupes de rats Sham et LTP à divers moments. Du point de vue structurel, une tendance à la hausse fut observée aux jours 14 et 21 pour les DOGs et DOGd chez les rats LTP. Bien que seulement significative au jour 14, la différence entre les groupes a permis de supposer un remodelage plus modéré, mais tout de même concret de la cavité auriculaire gauche en comparaison avec son homologue du côté droit. Un constat similaire a pu être noté concernant l'ÉPAVGd pour ces mêmes jours de sacrifice. Accessoirement, le taux de fibrose calculé pour les échantillons de tissus auriculaires gauches au 21^e jour a démontré une hausse marquée chez les rats ayant eu la ligature par rapport aux rats Sham ainsi qu'aux rats LTP d'autres dates, dans une moindre mesure.

D'autres tendances ont pu être discernées quant aux expressions géniques et protéiques. Ce fut par exemple le cas pour les niveaux d'expression des gènes *Il1b* et *Cxcl1* dans l'OD de rats LTP qui ont connu une hausse relativement importante au jour 14 post-chirurgie, avant de diminuer à nouveau vers des valeurs semblables à celle des Sham pour le jour 21. En plus, les immunobuvardages de type Western faits à partir de tissus auriculaires droits ont révélé que l'expression de la protéine TGFβ3 chez les rats LTP est demeurée globalement inférieure à celle

des Sham pour chaque date, particulièrement aux jours 7 et 14. Inversement, les niveaux d'expression d'AML- α mesurés aux jours 14 et 21 ont augmenté du côté des rats LTP par rapport aux Sham.

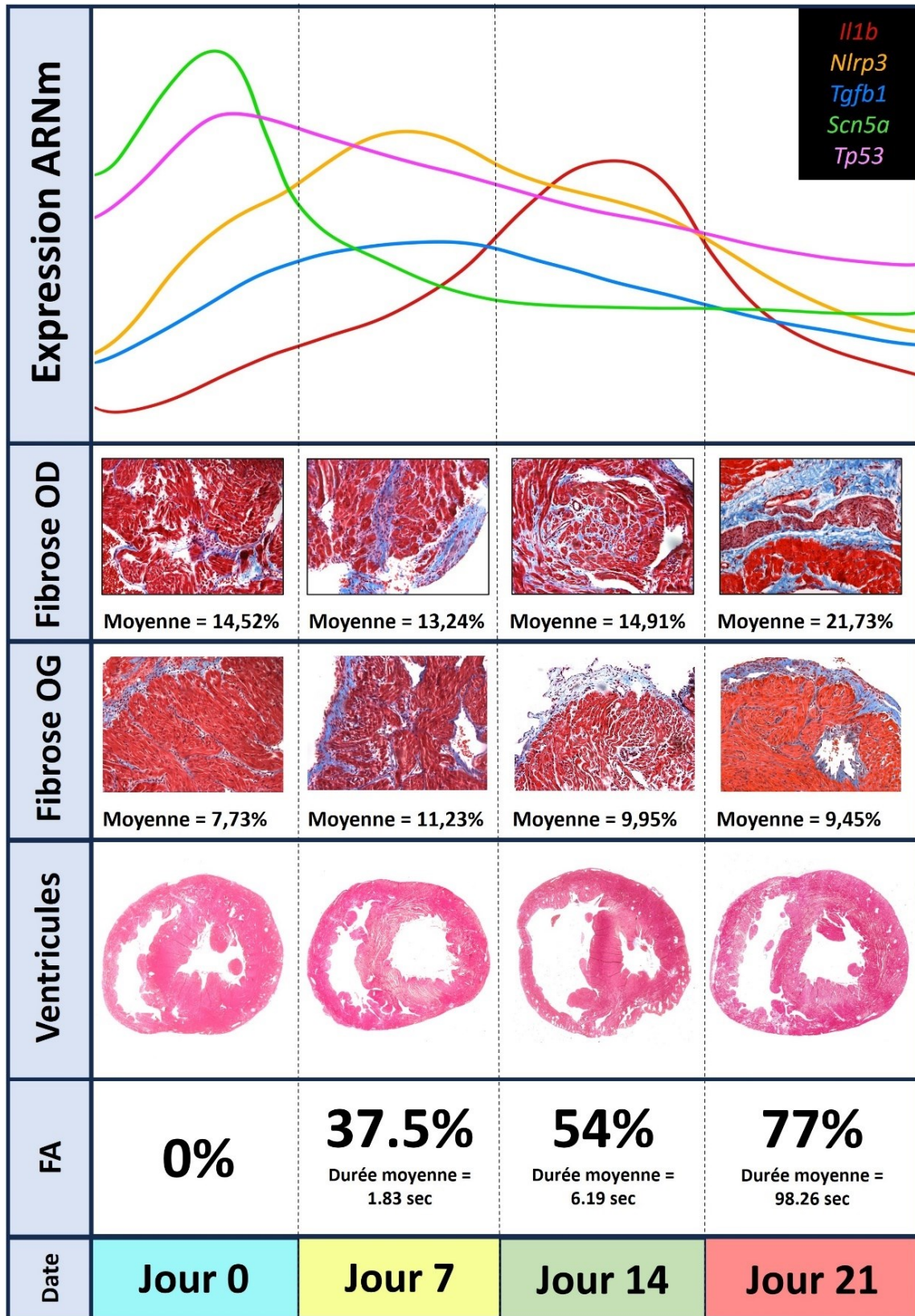


Figure 19 Évolution du profil inflammatoire, fibrotique et électrique des rats LTP

Note. Profil abstrait de la variation dans le temps de l'expression de gènes impliqués dans l'inflammation, la fibrose, la synthèse de canaux ioniques ou la gestion calcique chez les rats LTP en plus d'un support visuel décrivant la progression temporelle du statut fibrotique auriculaire droit et gauche ainsi que du remodelage des ventricules. L'évolution de la susceptibilité aux épisodes de FA (fréquence et durée) est également notée. Les sections de cette figure n'ont pas comme but de représenter une corrélation directe entre les observations aux niveaux génique, histologique et électrophysiologique, mais plutôt de mettre de l'avant la dimension temporelle du projet. Le fait de corréler les paramètres sera définitivement considéré dans les volets futurs de cette étude.

4.2 Mécanismes et processus menant à l'apparition de la FA

4.2.1 Morphologie du cœur droit

Une multitude de changements morphologiques ont été observés chez les rats ayant eu une LTP, le jour même de leur chirurgie pour certains (**Figures 19 et 20**). Le rétrécissement du diamètre du tronc pulmonaire, l'augmentation de la résistance vasculaire et l'élévation de la pression sanguine qui en résulte dans la circulation pulmonaire (**Figure 2**) ont directement contribué à une hausse drastique de la post-charge, c'est-à-dire la pression exercée sur les parois du VD lors de l'éjection systolique (Naeije et al., 2022; Ross, 1976).

C'est à partir de ce moment que la dilatation du VD s'installe grâce à sa compliance et que ses capacités contractiles vont s'affaiblir, en plus de voir ses parois être endommagées par la pression chronique (Borgdorff et al., 2015; Cassady & Ramani, 2020; Pena et al., 2020). Bien que le VD arrive à s'adapter efficacement à cette pression durant les premiers temps suivants l'apparition graduelle ou mécanique de l'HTAP en s'hypertrophiant de manière pathologique via l'augmentation de son nombre de CM (**Figure 4C**), il se retrouve éventuellement en situation de décompensation (Akazawa et al., 2020; Cassady & Ramani, 2020; Pena et al., 2020). Si cet état décompensatoire persiste sans qu'il n'y ait de rétablissement de la pression dans la circulation pulmonaire, il peut y avoir une IC droite (Pena et al., 2020; Ventetuolo & Klinger, 2014). À ce

stade, le VG n'est plus en mesure de se remplir suffisamment de sang pour éjecter dans la circulation systémique car la résistance à l'éjection de sang en provenance du VD est trop conséquente et ne permet pas d'atteindre un volume minimalement adéquat (Richter et al., 2023; Ventetuolo & Klinger, 2014).

Quelques paramètres indicateurs des facultés systoliques ventriculaires droites peuvent prédire une éventuelle détérioration de la fonction contractile du VD. Par exemple, l'ESPAAT (**Figure 4D**) et la fraction d'éjection du VD sont diminués chez des patients souffrant d'hypertension pulmonaire (Schmeißer et al., 2021). Le Td est lui aussi diminué dans un contexte pathologique semblable chez des patients humains et dans certains modèles animaux (Caivano et al., 2020; Utsunomiya et al., 2011).

Les cavités cardiaques adjacentes aux VD sont également affectées par son remodelage. La pression importante dans le VD se répercutant sur le septum inter-ventriculaire le « pousse » en direction du VG, entraînant ainsi un stress supplémentaire à cette chambre (Cassady & Ramani, 2020; Pinsky, 2016). Ultimement, cela pourrait également être un vecteur de détérioration des fonctions ventriculaires gauches (Alpert et al., 2016) et les données cumulées ont démontré que l'HTAP a significativement affecté le fonctionnement du VG (**Figure 3**). Sa structure a elle aussi eu des changements, principalement une compression, mais ceux-ci n'ont pas été quantifiés par échocardiographie. (**Figure 9**). Le fait qu'un remodelage du VG aussi important n'ait pas été observé chez les rats LTP de cette étude est peut-être simplement lié à la sévérité du modèle ou à la durée d'exposition du cœur droit aux perturbations hémodynamiques. De plus, les données présentées par Alpert et al. (2016) proviennent de patients obèses, un statut affectant différemment l'hémodynamie qu'une ligature soudaine du tronc artériel pulmonaire. Par contre, l'histologie et l'échocardiographie ont permises de voir que le VD a exercé une pression considérable sur le VG et donc réduit le volume de la chambre.

D'autres changements majeurs se déroulent dans l'OD tels que des régurgitations tricuspidiennes en raison de la dilatation du VD (Cassady & Ramani, 2020; Guta et al., 2021; Prihadi et al., 2019), un agrandissement de la cavité auriculaire droite causé par l'accumulation constante de pression du côté droit du cœur ainsi qu'une augmentation du volume de sang éjectable découlant de sa

propre dilatation (**Figure 4A,B**) (Cassady & Ramani, 2020; Lucia Agoston-Coldea et al., 2015; Richter et al., 2023). La littérature actuelle mentionne majoritairement que ce changement de dimension de l'OD aura plutôt tendance à réduire ses capacités contractiles (Lucia Agoston-Coldea et al., 2015; Mercurio et al., 2018; Nemes & Kormányos, 2023). Ce constat va donc à l'encontre des fondements du mécanisme de Frank-Starling selon lequel une dilatation des muscles d'une chambre cardiaque s'accompagne généralement d'une amplification de ses capacités contractiles (Nemes & Kormányos, 2023)

4.2.2 Inflammation dans les oreillettes

Les niveaux d'expression géniques et protéiques mesurés par RPCq et immunobuvardage pour les marqueurs de l'inflammation ont été révélateurs de certaines facettes des processus inflammatoires impliqués dans le modèle LTP. Il est toutefois important de mentionner que, globalement, peu de données significatives se sont démarquées pour les différents gènes. Ce fut particulièrement le cas pour les taux d'ARNm quantifiés dans les tissus auriculaires gauches.

L'élévation de *Nlrp3* au 7^e jour indique une activation de NF- κ B au sein des CM auriculaires droites. Compte tenu du fait qu'aucun changement significatif n'ait été observé dans l'expression protéique d'IL-1 β , il y a eu lieu de supposer que NF- κ B n'a pas été activé par cette protéine. Par exemple, dans ce cas-ci, ANGII ou TNF- α auraient pu être responsables du déclenchement de l'assemblage de NLRP3 (Suetomi et al., 2018). De plus, le pic d'expression de *Nlrp3* coïncide avec l'apparition de FA chez les rats LTP, suggérant son implication dans la détérioration de l'intégrité électrophysiologique du cœur. Une activation intensifiée et soutenue de l'inflammasome NLRP3 conduisant à une plus forte production de cytokines pro-inflammatoires pourrait amplifier la différenciation des fibroblastes auriculaires en myofibroblastes en favorisant la libération d'autres cytokines davantage axées sur l'instauration d'un profil pro-fibrotique. Dans le cadre de cette expérience, il est possible que l'augmentation de *Nlrp3* ait pu se refléter au niveau protéique et ainsi contribuer à la mise en place d'une inflammation arythmogène sous la forme d'une barrière anatomique composée de cellules fibrotiques.

Il6 contribue aussi à la régulation ainsi qu'à la différenciation des fibroblastes en myofibroblastes qui vont-elles-mêmes secrétées d'autres cytokines (J.-H. Wang et al., 2016). La hausse marquée d'*Il6* au jour 0 a ensuite été suivie d'une baisse vers des valeurs semblables à celles des Sham les jours suivants. Un lien pourrait être fait entre son hyper-expression et l'accentuation des taux d'ARNm au jour 7 pour *Tgfb1*, *Col1a1* et *Acta2*. D'ailleurs, une étude portant sur des souris ayant eu une chirurgie IM a démontré une diminution d'AML- α dans les CM situées en bordure de la zone atteinte lorsque celles-ci avaient été traitées avec des anticorps bloquants pour IL-6 (Müller et al., 2014).

Une hypothèse concernant l'expression de *Cxcl1* au jour 0 dans l'OD est qu'ANGII aurait eu un effet stimulant en raison de l'hypertension causée de manière soudaine par la chirurgie LTP. Néanmoins, son impact semble avoir été minime pour cette cascade de signalisation puisque son expression n'a jamais varié significativement. Le degré d'implication du SRAA au niveau auriculaire n'a pas été étudié, mais pourrait être révélateur sur la place d'ANGII en contexte d'HTAP.

L'expression d'*Il10* n'a pas connu de changement majeur pour les rats LTP. Cette observation permet de se questionner les processus anti-inflammatoires retrouvés dans ce modèle de MCD. Il est raisonnable de croire que la transcription d'*Il10* n'a pas été suffisamment stimulée ou que d'autres marqueurs anti-inflammatoire ont participé à la résolution en parallèle de l'inflammation découlant des dommages tissulaires causés par le remodelage. Le médiateur lipique résolvine D1 en est un exemple.

L'inflammation est un phénomène complexe à mesurer qui peut notamment être divisé en différentes phases dont l'intensité varie. Dans un modèle d'IM murin par exemple, on distingue trois phases : l'inflammation aiguë, la résolution/réparation et l'ischémie chronique (Prabhu & Frangogiannis, 2016). La nature cardiovasculaire du remodelage généré par la LTP pourrait potentiellement générer un patron semblable. Compte tenu de la sensibilité du facteur temporel dans un tel déroulement, certaines nuances ont pu échapper aux analyses géniques menées dans le cadre de cette étude. De plus, la distribution des marqueurs pro-inflammatoires dans un tissu est un facteur pertinent à considérer et représente une autre source de fluctuation au niveau de

leur expression. L'ajout de plusieurs autres marqueurs dans les expériences de quantification protéique est définitivement une avenue essentielle à l'obtention d'une meilleure vue d'ensemble des impacts de la constriction.

4.2.3 La fibrose en réponse à la pression

La surcharge de pression chronique appliquée sur le côté droit du cœur ne va pas seulement entraîner des changements au niveau de sa morphologie, mais également à l'échelle tissulaire. En effet, en raison d'un étirement et d'un renforcement protéique des CM, la dilatation ainsi que l'hypertrophie des chambres cardiaques droites durant leur phase de compensation adaptative crée davantage d'espace extracellulaire et cela favorise la formation de fibrose (**Figure 20**) (Cassady & Ramani, 2020; Dilaveris et al., 2019; D. Hu et al., 2020).

4.2.3.1 Différenciation des fibroblastes

Le tissu fibrotique est synthétisé dans le milieu interstitiel en réponse aux divers signaux inflammatoires sécrétés suite aux dommages non ischémiques causés aux CM auriculaires et ventriculaires (Ninh & Brown, 2021; Xintarakou et al., 2020). Les dommages en question proviennent du fait que la transition structurelle du cœur engendre au niveau cellulaire, entre autres, une augmentation marquée du stress oxydatif et des altérations mitochondriales (Goette & Lendeckel, 2021; Thandavarayan et al., 2020). Cette détérioration du métabolisme cellulaire va susciter une libération de motifs moléculaires associés aux dégâts (MMAD) ainsi que l'instauration d'un profil inflammatoire et pro-fibrotique par les CM, mais aussi par les FB déjà présents dans le tissu cardiaque (Ninh & Brown, 2021; Xintarakou et al., 2020).

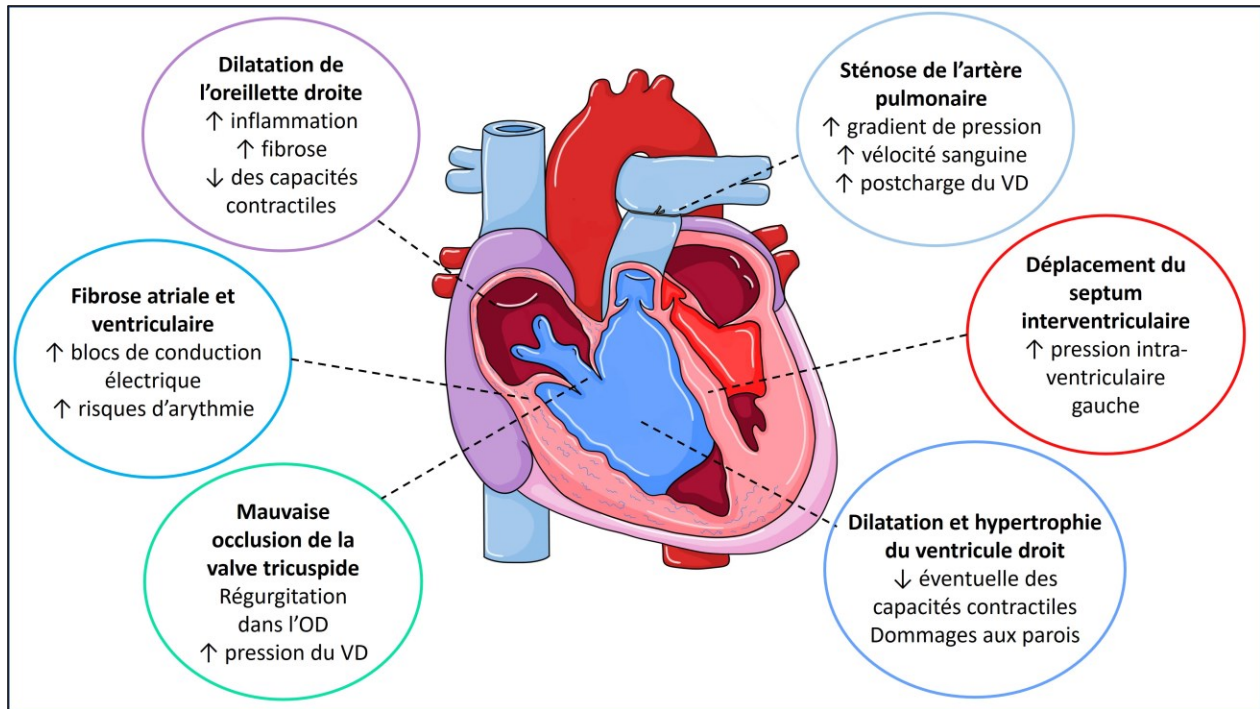


Figure 20 Impacts structuraux et tissulaires de la chirurgie LTP

Note. Modifications au niveau du cœur droit en réponse à une constriction chronique du diamètre du tronc artériel pulmonaire. Ces changements ont été observés sur les rats LTP dès le jour 0 par échocardiographie et histologie. Figure réalisée par Charles-Alexandre LeBlanc.

Les symptômes de MCD qu'on retrouve dans l'OD en contexte de HTAP incluent une augmentation du taux de fibrose auriculaire. L'augmentation de fibrose observée chez les rats LTP dans le cadre de l'étude coïncide avec ce qui est attendu lorsqu'une pathologie endommage de manière chronique un tissu (**Figure 9A**). Un cercle vicieux se crée entre le déclenchement de processus inflammatoires et le dépôt interstitiel de MEC. Il est tout de même intéressant de constater que les taux de fibrose mesurés aux différentes dates de sacrifice dans l'OD sont similaires à ceux de l'OG. Cela pourrait partiellement s'expliquer par le fait que la hausse de pression du côté droit du cœur a également atteint le côté gauche. Comme l'ont démontré les données obtenues par échocardiographie, la hausse de post-charge ventriculaire droite semble avoir occasionné une hypertrophie des parois et une dilatation du VD. La conséquence principale

de ce remodelage est la compression du septum interventriculaire et donc du VG. À l'instar de ce qui a été provoqué chirurgicalement du côté droit, il est envisageable qu'une hausse de pression dans le VG se transmette à l'OG et qu'il y ait donc une agression du tissu.

Dans le but de caractériser l'évolution de quelques marqueurs pro-fibrotiques, les analyses par RPCq ont d'abord démontré que l'expression de *Tgfb1* était amplifiée chez les rats LTP, peu importe la date de sacrifice. Compte tenu de l'hypertrophie ventriculaire compensatrice, de la dilatation de l'OD, de l'aggravation du statut fibrotique auriculaire ainsi que de l'augmentation d'ARNm de *Tgfb1* dans les oreillettes qui ont pu être observés chez les rats ayant eu une ligature, il est possible que ce gène ait joué un rôle central dans le remodelage cardiaque des rats LTP (**Figures 9 et 10**).

De plus, la réponse à l'élévation de la pression du côté droit du cœur a pu faire intervenir d'autres marqueurs dans un même but. Par exemple, il est possible que l'ANGII ait contribué directement à l'instauration d'un statut fibrotique en agissant sur les fibroblastes tout en favorisant la synthèse de TGF- β dans les oreillettes (Schimmel et al., 2022; Xintarakou et al., 2020).

D'une manière similaire à TGF- β 1 et TGF- β 3 participe à la réparation du tissu en stimulant la prolifération ainsi que la différenciation cellulaire. C'est notamment le cas pour la différenciation des fibroblastes en myofibroblastes. Tel que mentionné précédemment, ces deux cytokines interagissent avec les mêmes récepteurs en surface des cellules (Biernacka et al., 2011). Cependant, son implication concrète dans les processus pro-fibrotiques demeure controversée puisqu'on lui attribue des propriétés cicatricielles sans intervention de la fibrose (Lichtman et al., 2016). L'expression croissante dans le temps de TGF- β 3 dans l'OD des rats LTP laisse plutôt supposer qu'un lien existe entre l'expression de cette protéine et la quantité de collagène dans un tissu cardiaque (**Figures 11**).

En plus d'assurer un maintien de la cohérence tissulaire, les myofibroblastes vont sécréter plusieurs types de protéines ayant des fonctions divergentes (inflammation, fibrose, croissance, etc.) (Tan & Zimetbaum, 2010). Parmi ces protéines produites, il y a l'actine de muscle lisse alpha (AML- α), mais surtout le collagène de type 1 qui est majoritairement présent dans la MEC (Frangogiannis, 2021).

4.2.3.2 Gènes et protéines caractéristiques de la fibrose cardiaque

L'effet de TGF- β est d'autant plus notable lorsqu'on porte attention aux niveaux d'expressions auriculaires de *Col1a1*. Pour chaque date de sacrifice, ils étaient plus élevés chez les rats ayant eu une ligature par rapport aux Sham. Étant donné que le collagène de type I est la protéine retrouvée en plus grande quantité dans la MEC, cela permet de croire qu'une augmentation de *Col1a1* coïncide avec une accentuation de la fibrose dans les oreillettes (Frangogiannis, 2017).

D'ailleurs, dans une étude récente menée par De Wit et al. (2023) sur un modèle de souris avec une post-charge du cœur gauche augmentée par une chirurgie CTA, le taux d'ARNm de *Col1a1* était nettement plus haut que chez les Sham (De Wit et al., 2023). Il est aussi important de noter que chez des rats ayant eu une chirurgie LTP, le taux de collagène dans le cœur droit est plus haut chez les mâles que chez les femelles (Cheng et al., 2022). Peut-être que la différence entre Sham et LTP serait plus subtile chez des rats femelles.

Les taux d'expression protéique de COL1A1 légèrement plus élevés chez les rats LTP vont dans le sens des observations faites au niveau génique mais ces augmentations n'étaient pas significatives. En plus, les études histologiques ont permis de visualiser que la quantité de collagène auriculaire coloré au trichrome de Masson était plus importante pour les tissus provenant de rats LTP.

Comme pour *Tgfb1* et *Col1a1*, l'expression d'*Acta2* dans l'OD était plus élevée chez les rats LTP. Au niveau protéique, une variation similaire d'ACTA2/AML- α avait déjà été observée dans des fibroblastes cardiaques humains provenant de patients souffrant d'HTAP. Cependant, l'expression du gène *Acta2* n'était pas amplifiée chez ces mêmes patients (Bekedam et al., 2022). L'élévation de son expression chez les rats Sham au jour 7 est inattendue puisqu'elle ne concorde pas avec ce qui a été vu en histologie pour ce groupe. *Acta2* présente tout de même une grande variabilité intra-groupe, tous les animaux n'ont pas présenté une valeur aussi haute que pour les LTP jour 0. Il y a une possibilité que ce qui est observé pour les Sham jour 7 reflète les variations typiques de ce gène à la suite d'une chirurgie, même si ce n'est qu'un contrôle. Sinon, une autre explication serait qu'au moment du prélèvement des tissus, ceux-ci ont été plus endommagés qu'à l'accoutumée et donc des processus inflammatoires aigus se sont mis en marche. Une

manière de contourner cette problématique serait de réaliser des expériences de quantification de l'expression génique/protéique, mais à partir de cellules isolées et non de tissus. Également, le séquençage de l'ARN d'une seule cellule permettrait d'obtenir un portrait individuel des niveaux d'expression. La combinaison des informations obtenues pour plusieurs cellules pourrait ainsi servir à constater leur diversité dans un tissu.

Chez les rats LTP, la hausse d'AML- α n'était pas aussi marquée que celle d'*Acta2*. Cela est surprenant puisqu'une hausse de TGF- β est typiquement associée avec une plus forte présence d'AML- α et donc de myofibroblastes chez les rats dans les cellules musculaires lisses lors de guérison tissulaire. Une explication pour cette observation serait que, bien que l'expression génique soit élevée, certains mécanismes biologiques ont pu interrompre ou limiter la traduction des ARNm ou même la maturation des protéines. Sinon, peut-être qu'un délai plus long après la date de chirurgie aurait été nécessaire afin de constater une expression protéique plus prononcée. Encore là, des analyses supplémentaires pourraient fournir plus de détails sur le rôle d'AML- α dans ce contexte.

4.2.4 Remodelage électrophysiologique

À l'exception de l'amplitude de l'onde P, les données obtenues par études électrophysiologiques démontrent une absence de différence significative dans la durée des composantes d'un ECG entre les rats Sham et LTP. Un article de 2022 basé sur une étude clinique met de l'avant certaines distinctions électrophysiologiques observées chez un groupe de 26 patients souffrant d'une HTAP. Tout en étant branchés à un ECG, ils ont été soumis à un test d'exercice cardiopulmonaire (TECP), une échocardiographie, une cathétérisation du cœur droit ainsi qu'à un test de marche. Parmi les paramètres analysés lors de cette étude, ils ont noté un complexe QRS prolongé et une amplitude de l'onde P supérieure chez les patients avec une pression intra-auriculaire droite élevée (Michalski et al., 2022). Chez les rats LTP, l'amplitude de l'onde P a également été prolongée par rapport aux rats Sham. Cependant, le complexe QRS a conservé une durée similaire dans les deux groupes. Il est possible que, malgré le remodelage structurel du VD et son hémodynamie anormale, ses circuits électriques soient demeurés relativement intègres et qu'il

n'y ait donc pas eu de ralentissement dans la conduction électrique comme dans l'OD. Cela expliquerait pourquoi la phase de dépolarisation des ventricules n'a pas été allongée. Il est à noter que l'amplitude de l'onde P, que ce soit chez les rats LTP ou Sham, a diminué à travers le temps jusqu'à être à son point le plus bas au 21^e jour, supposant ainsi un lien avec l'âge des animaux. Le fait qu'elle demeure supérieure chez les rats LTP peut être corrélé à un ralentissement de la conduction électrique et de la vitesse de dépolarisation dans les oreillettes (Gorenek et al., 2003).

Lorsque le tissu cardiaque droit (notamment celui de l'OD) s'hypertrophie, s'étire et/ou subit une inflammation chronique, il s'ensuit une réorganisation de ses circuits électriques (Gunturiz-Beltrán et al., 2022; Koyama et al., 2009). Cette réorganisation implique une altération sévère du positionnement et de l'expression des connexines (ex : Cx40, Cx43) formant les jonctions communicantes entre les CM, mais aussi de l'expression de canaux ioniques contribuant au potentiel d'action (PA) (Y.-F. Hu et al., 2015; Koyama et al., 2009; Nattel et al., 2020). Des canaux sodiques, calciques et potassiques sont responsables du PA déclenché dans les cellules cardiaques.

Le PA d'un CM auriculaire se compose de cinq phases. La phase 0 correspond à la dépolarisation rapide. Elle implique l'ouverture de canaux sodiques voltage-dépendants Nav1.5 suivie d'une entrée d'ions Na⁺ dans la cellule (courant I_{Na}). Le potentiel membranaire passe alors à 30 mV. La phase 1 est la repolarisation rapide. C'est à ce moment que se ferment les canaux sodiques et s'ouvrent les canaux potassiques Kv4.3 et Kv1.4, permettant une sortie d'ions K⁺ (courant I_{to}) vers le milieu extracellulaire. Le potentiel membranaire chute alors modérément. La phase 2, ou plateau, inclut l'ouverture de canaux calciques voltage-dépendants de type L Cav1.X faisant entrer des ions Ca²⁺ (courant I_{CaL}). Cela crée un équilibre avec la sortie d'ions K⁺ précédemment enclenchée et donc une stabilisation du potentiel membranaire. C'est lors de la phase 3 que débute la repolarisation. C'est la fermeture des canaux calciques et ouverture de canaux sodiques Kv1.5 (courant I_{Kur}), Kv11.1 (courant I_{Kr}) et Kv7.1 (courant I_{Ks}) pour faire sortir davantage d'ions K⁺ et ainsi diminuer massivement le potentiel membranaire jusqu'à sa valeur de repos de -80 mV. Enfin, la phase 4, ou phase de repos représente la stabilisation du potentiel membranaire via l'ouverture d'autres canaux sodiques, Kir2.3, pour assurer une sortie d'ions K⁺ contrôlée afin de maintenir le potentiel à -80 mV (**Figure 21A**) (Priest & McDermott, 2015; Wei et al., 2023).

Pour le PA des cellules pacemakers se trouvant dans le NS, il n'y a que trois phases. La phase 4 correspond à la dépolarisation graduelle de la cellule causée par une ouverture du canal HCN générant une entrée lente d'ions Na^+ et K^+ dans la cellule. Cela entraîne une augmentation modérée du potentiel membranaire de -60 mV jusqu'au seuil de -40 mV (courant "funny" I_f). Parallèlement, des canaux calciques voltage-dépendants de type T Cav3.X vont s'ouvrir et précipiter l'atteinte du seuil de -40 mV en faisant entrer des ions Ca^{2+} (courant I_{CaT}). Le potentiel ne demeure donc pas stable comme pour la phase 4 des CM. Ensuite, la phase 0 est une dépolarisation plus prononcée par l'ouverture de canaux calciques voltage-dépendants de type L Cav1.X faisant entrer des ions Ca^{2+} (courant I_{CaL}). Le potentiel membranaire passe alors de -40 mV à 10 mV. C'est durant la phase 3 que la cellule pacemaker va se repolariser via une fermeture des canaux calciques suivie d'une ouverture de canaux sodiques Kv1.5 (courant I_{Kur}), Kv11.1 (courant I_{Kr}) et Kv7.1 (courant I_{Ks}) faisant sortir une importante quantité d'ions K^+ . Le potentiel membranaire va vite diminuer jusqu'à -60 mV (**Figure 21B**) (Priest & McDermott, 2015; Wei et al., 2023). Afin de pouvoir déterminer quelles étapes du PA peuvent être perturbées dans l'OD lorsqu'un individu est atteint d'une MCD, la quantification de gènes et de protéines associés aux canaux ioniques participant à l'élaboration du PA furent réalisées à partir de tissus auriculaires.

4.2.4.1 Canaux ioniques régulateurs du potentiel d'action

La réduction de l'expression de *Scn5a* observée via RPCq chez les LTP à partir du 7^e jour coïncide avec l'apparition de la FA des rats LTP puisqu'aucune n'a été enregistrée pour les animaux du groupe Jour 0. Ce gène codant pour une sous-unité α du canal sodique Nav1.5 responsable du courant d'ions Na^+ du milieu extracellulaire vers l'intérieur de la cellule (I_{Na}) est crucial au déclenchement ainsi qu'au maintien du PA des CM, qu'elles soient de type pacemaker ou non (Savio-Galimberti & Darbar, 2014). Ainsi, la diminution de l'expression de ce gène, qu'elle résulte d'une pathologie (origine pathogénique) ou d'une mutation, est associée à un ralentissement du rythme cardiaque en retardant la phase 0 du PA normal des CM qui entraîne une augmentation de la PRE ainsi que de la durée du PA (Amin & Bhuiyan, 2010; Savio-Galimberti & Darbar, 2014).

Bien que la fréquence cardiaque des rats LTP n'ait pas baissée de manière significative, l'écart moyen entre les groupes au jour 0 était de 16.29 alors qu'il était de 42.95 au jour 21. Il est possible que le modèle de LTP ne soit pas aussi dommageable sur le PA des CM qu'une mutation directe

du gène *Scn5a*, ou qu'il mette davantage de temps avant de l'être. Cependant, l'augmentation de la vulnérabilité aux arythmies auriculaires semblent aller dans le même sens que le déclin de l'expression de ce gène. Le fait que le pic d'expression de *Scn5a* ait eu lieu au jour 0 pour les LTP est peut-être dû à un mécanisme compensatoire à court terme de la machinerie génique en réponse à l'agression au tissu auriculaire droit par la pression sanguine. Étant donné que les niveaux d'ARNm sont restés assez constants chez les Sham, l'expression réduite aux jours suivants pour les LTP supposerait donc une incapacité à compenser la perte. La différence significative calculée entre les deux groupes au jour 21 mets en lumière l'écart qui semble se creuser dans le temps quant à la transcription de ce gène.

Le canal Nav1.5 est aussi énormément sollicité lors de la phase 4 du PA des cellules pacemakers. Plusieurs pathologies cardiovasculaires de nature électrique rencontrées en clinique telles que le syndrome du long QT (LQTS) ou le syndrome de Brugada au niveau ventriculaire et la FA ou FIA dans les oreillettes se caractérisent entre autre par des mutations engendrant des variations négatives au niveau de *Scn5a* (Wilde & Amin, 2018).

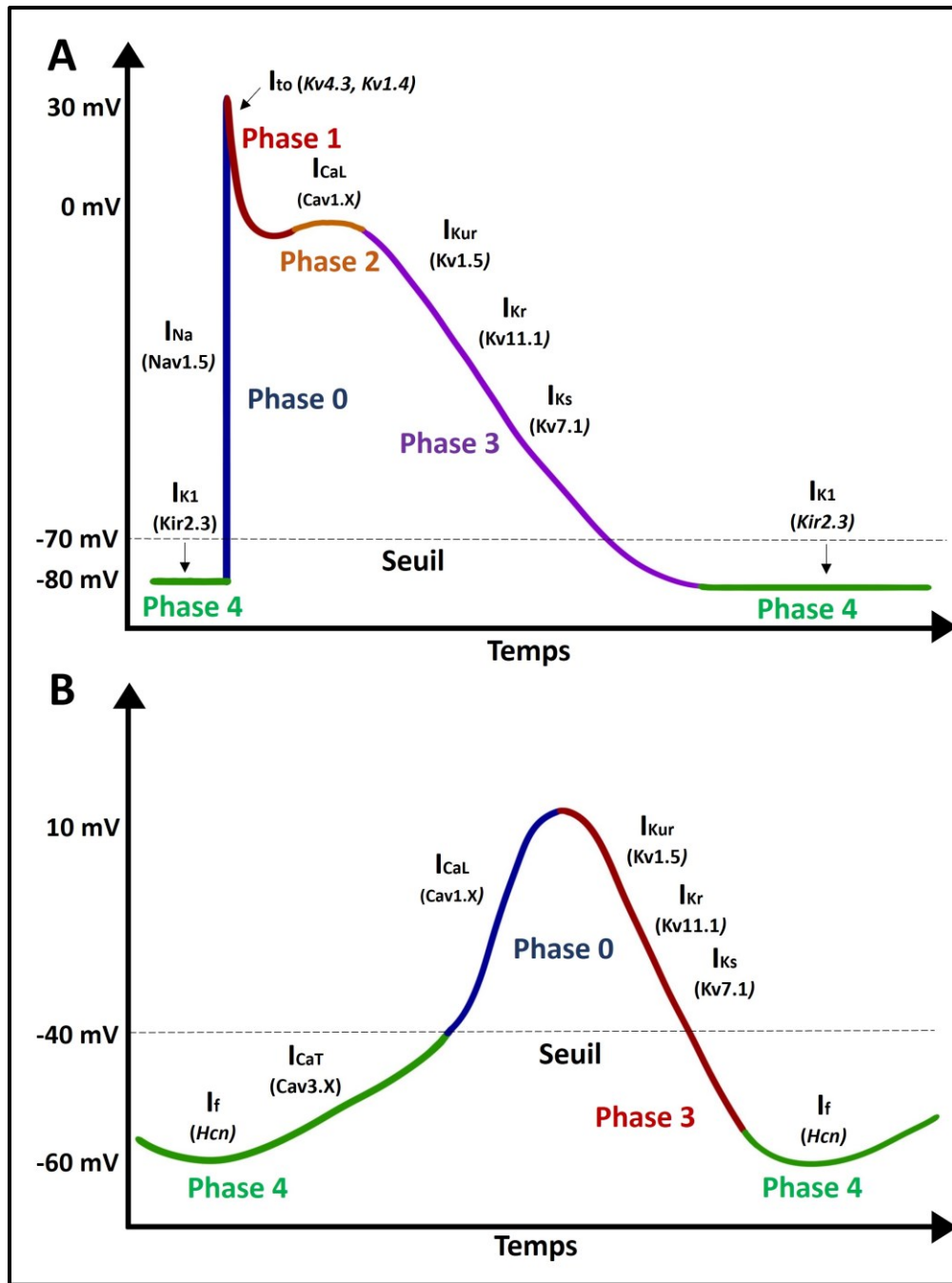


Figure 21 Potentiels d'action de cardiomyocytes auriculaires et de cellules pacemaker

Note. **(A)** Différentes phases composant le potentiel d'action de CM auriculaires : Phase 4 (Dépolarisation rapide), 1 (Repolarisation rapide), 2 (Plateau), 3 (Repolarisation) et 4 (Repos). **(B)** Différentes phases composant le potentiel d'action de cellules pacemaker : Phase 4 (Dépolarisation graduelle), 0 (Dépolarisation) et 3 (Repolarisation). Figure réalisée par Charles-Alexandre LeBlanc.

L'expression du gène *Cacna1c* codant pour la sous-unité $\alpha 1C$ du canal calcique voltage-dépendant de type-L Cav1.2 a été diminué chez les rats LTP par rapport aux rats Sham de leur groupe (Striessnig et al., 2014). Ce canal sert à faire entrer les ions Ca^{2+} dans la cellule par le courant I_{Ca-L} lors de la phase 2, dites de « plateau », du PA des CM ainsi que durant la phase 0 pour les cellules pacemakers, correspondant à leur dépolarisation. Une diminution de son expression pourrait donc causer un raccourcissement de la durée du PA des cellules cardiaques de l'atrium. Des travaux de Sun et al. (2016) ont détaillés comment l'inflammation et les interactions entre les cellules immunitaires et CM qu'elle implique peuvent être à l'origine d'un dérèglement électrique dans des modèles de souris et de chiens souffrant d'inflammation chronique. Dans le cas de *Cacna1c*, ce sont les macrophages qui viennent interférer avec sa transcription via la cytokine IL-1 β (Sun et al., 2016). Lors d'une autre étude centrée sur un modèle murin de cardiomyopathie auriculaire, une équipe de chercheurs a mesuré une diminution de l'expression de gènes fortement associés à la gestion/machinerie calcique, dont *Cacna1c*, résultant de l'infiltration de cellules immunitaires dans le tissu (Murakata et al., 2023). De plus, il a déjà été démontré qu'une variation similaire de ce même gène dans l'OD était observable dans un modèle de MCD chez le rat (Hiram et al., 2019). Un peu comme pour *Scn5a*, *Cacna1c* joue un rôle dans l'apparition de FA.

Un autre gène codant pour un canal ionique impliqué dans le PA des CM est le gène *Kcnq1*. Le canal associé, IKs participe à la phase 3 du PA qui est celle de la repolarisation en permettant une sortie d'ions K^+ vers l'extérieur de la cellule. Une variation significative, qu'elle soit positive ou négative, de l'expression du gène en raison d'une mutation ou d'inflammation peut prédisposer un individu au développement de FA (Dixit et al., 2020; Sanguinetti & Seebohm, 2021). Une diminution de son expression dans l'OD chez les rats LTP suggère une moins grande présence du canal Kv7.1 et donc un affaiblissement du courant potassique I_{Ks} . Cela a peut-être contribué au ralentissement de la repolarisation du tissu auriculaire droit et généré une post-dépolarisation retardée (PDR), favorisant le déclenchement d'arythmie. Par contre, le niveau d'expression pour les rats LTP à J21 est nettement plus haut que celui des rats LTP J0, près des valeurs des Sham pour une même date. Les données de vulnérabilité à la FA vont donc à l'encontre de ce constat car elles ont atteint leur paroxysme au jour 21 pour les rats LTP. Un autre facteur serait alors plus

propice pour expliquer l'incidence élevée de FA chez ces animaux. Du côté de l'OG, les niveaux d'expression sont peu différents entre les Sham et les LTP, indiquant un faible impact du remodelage à ce niveau.

4.2.4.2 Machinerie calcique des cardiomyocytes

Le récepteur de la ryanodine 2 (RyR2) est un canal ionique localisé sur la membrane du réticulum sarcoplasmique (RS). Son activation, ainsi que son ouverture, sont conditionnelles à une diminution suffisamment importante de la concentration de Ca^{2+} dans le cytosol d'un CM. Le calcium entrant dans la cellule via le canal Cav1.2, activé par le potentiel d'action membranaire, va initier l'activation de RyR2. Il s'ensuit une libération du Ca^{2+} (phénomène nommé « calcium-induced calcium-released ») contenu dans le RS vers le milieu cytosolique suivie d'une régulation de la contraction de la cellule par une liaison du Ca^{2+} à la troponine-C (Aronsen et al., 2016; Kushnir et al., 2018). Il a été démontré qu'une expression, une oxydation ou une phosphorylation accentuée du gène *Ryr2*, responsable de la synthèse de RyR2, peuvent contribuer à l'apparition d'activités électriques ectopiques en raison d'une gestion déstabilisée du calcium (ex : fuite du RS, surcharge du RS) (Gillis & Dobrev, 2022; Nattel et al., 2020). En effet, un débalancement de la concentration de Ca^{2+} cytosolique peut faciliter le déclenchement d'anomalies électriques proarythmiques tels que la post-dépolarisation précoce (PDP) ou la PDR (Fowler & Zissimopoulos, 2022).

La diminution significative de l'expression du gène *Ryr2* mesurée chez les rats LTP aux jours 0 et 7 à partir de tissus auriculaires droits ressemble à ce qui a déjà été vu au niveau du nœud sinusal, et dans une moindre mesure dans l'OD, de rats avec une HTAP induite par injection de monocrotaline (MCT), un autre modèle animal de MCD (Logantha et al., 2023). Pour cette étude, la réduction a pu être due aux modifications morphologiques de l'OD ainsi qu'à l'implication de l'inflammation et de l'oxydation via les DRO (Nattel et al., 2020). En dépit d'une baisse soudaine lors des premiers jours suivants la chirurgie LTP, l'expression de *Ryr2* a ensuite remonté. La coïncidence de cette tendance avec l'augmentation de la vulnérabilité aux arythmies chez les rats suggère que, potentiellement, des fuites de Ca^{2+} en provenance du RS causées par une variation

de l'expression ou un fonctionnement fautif de *Ryr2* auraient pu favoriser des activités ectopiques dans le tissu auriculaire. L'étude de la machinerie calcique des CM n'était pas au centre de ce projet, mais une étude ultérieure plus approfondie au niveau des mécanismes impliquant RYR2 dans le remodelage électrophysiologique lors d'une MCD serait tout à fait pertinente. Dans cette optique, d'autres techniques comme l'immunobuvardage de type Western ou le patch clamp seraient des outils judicieux. L'intérêt du patch clamp étant de mesurer l'activité électrique d'une cellule et donc des courant ioniques situés dans sa membrane, il fournirait un portrait plus précis du remodelage électrophysiologique que peut induire une MCD.

Comme pour *Ryr2*, une diminution d'ARNm pour *Serca2a* a aussi été mesurée dans le nœud sinusal et l'OD de rats MCT (Logantha et al., 2023). Le gène *Serca2a* est responsable de la synthèse de SERCA2a, une ATPase calcique insérée dans la membrane du RS. Cette protéine capture les ions Ca^{2+} cytosoliques et les intériorise dans le RS ce qui fait diminuer la concentration de calcium intracellulaire lors de la diastole (Aronsen et al., 2016). Le fait que l'expression de *Serca2a* ait été particulièrement réduite chez les rats LTP aux jours de sacrifice 0, 7 et 14 pourrait avoir un lien avec le profil inflammatoire des rats à ces moments. En effet, certaines cytokines pro-inflammatoires peuvent faire varier l'expression et le fonctionnement de canaux ioniques. À titre d'exemple, le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α) peut réduire l'expression du gène *Serca2a* par l'ajout de groupements méthyl au niveau de l'ADN sur la région promotrice du gène (Y.-F. Hu et al., 2015). Avec les résultats actuels, il n'est possible que de supposer que les diminutions de *Serca2a* sont liées au profil inflammatoire des animaux LTP. Dans l'optique de mieux comprendre l'impact que peuvent avoir les cascades inflammatoires sur l'expression de gènes associés à la machinerie calcique des CM auriculaire, il serait judicieux d'inclure un volet sur la quantification protéique des niveaux de la cytokine TNF- α dans les travaux futurs.

Une réduction de la protéine SERCA2a est normalement synonyme d'une accumulation de Ca^{2+} intracellulaire et donc d'un prolongement potentiel du PA, ce qui pourrait laisser présager l'apparition de phénomènes arythmiques (Y.-F. Hu et al., 2015). Il y a donc lieu de présumer que le faible niveau d'expression de SERCA2a mesuré chez les rats LTP aux jours 7 et 14 implique un déséquilibre de l'équilibre calcique dans leur CM. Cela fait sens avec le recensement de FA qui ont commencées au 7^e jour post-chirurgie.

Le phospholambane (ou PLB) est une protéine transmembranaire située dans le RS des CM. Son activité est régulée par sa phosphorylation et elle contrôle l'inhibition de SERCA2a. L'ajout d'un groupement phosphate au PLB va l'inhiber et donc permettre à la pompe SERCA2a de capturer les ions Ca^{2+} avant de les interioriser dans le RS. Plus précisément, c'est la stimulation d'un récepteur membranaire β -adrénergique, qui va enclencher une cascade de signalisation impliquant une conversion de l'adénosine triphosphate (ATP) présente dans la cellule en adénosine monophosphate cyclique (AMPC) par l'action d'une adénylate cyclase. L'AMPC vient ensuite se lier à des sous-unités de la protéine kinase A (PKA). C'est cette enzyme qui est responsable de la phosphorylation de PLB et donc de son inhibition (MacLennan & Kranias, 2003).

L'expression protéique de PLB a peu variée dans l'étude à travers le temps et cela suggère que le taux d'inhibition de SERCA2a n'a pas été significativement altéré chez ces animaux. Des changements dans l'expression de PLB auraient pu faire varier la fonction contractile des CM. Par exemple, une réduction de PLB aurait pu causer un raccourcissement du potentiel d'action des CM auriculaires puisqu'une quantité moindre de Ca^{2+} aurait été disponible pour la contraction par rapport aux rats Sham en raison d'une hyperactivité de SERCA2a. C'est d'ailleurs ce qui avait été noté dans une étude portant sur des cellules souches humaines possédant des propriétés semblables aux cellules de l'atrium (Kervadec et al., 2023).

SERCA2a et PLB sont primordiaux pour l'équilibre homéostatique du calcium intracellulaire et viennent contrebalancer les actions de RYR2. Grâce à toutes ces protéines, les alternances de contraction et de relâchement des sarcomères des CM s'enchaînent de manière fluide.

4.2.4.3 Susceptibilité aux épisodes arythmiques auriculaires

Pour le volet *in vivo*, les résultats obtenus par études électrophysiologiques montrent que plus l'état de MCD était présent depuis longtemps, plus l'incidence d'épisodes arythmiques supraventriculaires, particulièrement la FA, était élevée. Cette tendance a culminé chez les rats LTP du groupe Jour 21. Ce constat avait déjà été fait lors d'une étude clinique incluant des patients souffrant d'HTAP ou d'hypertension pulmonaire chronique thromboembolique (HTPCT) deux conditions cardiovasculaires ayant une répercussion sur le cœur droit (Olsson et al., 2013;

Sammur et al., 2023). Exceptionnellement, un seul des rats Sham a eu de la FA à la suite des stimulations électriques, dans le groupe Jour 7. Ce phénomène pourrait potentiellement être lié à la stimulation électrique de ganglions connectés au système nerveux parasympathique situés près de l'OG lors d'une stimulation transoesophagienne. Lorsque localisée près de ces ganglions, la stimulation peut générer des blocs AV de manière répétée et donc prédisposer un individu sain à de la FA (Murphy et al., 2022). Un des aspects les plus remarquables des données obtenues par études électrophysiologiques est la durée extrême de certains épisodes de FA enregistrés chez trois rats LTP sacrifiés au 21^e jour. La persistance des arythmies dans leur cas, malgré des tentatives de défibrillation, résulte probablement d'un remodelage tissulaire plus intense causé par la hausse de pression. Une grande quantité de tissu fibrotique peut non seulement ralentir la propagation des signaux électriques, mais aussi être la cause de la formation de blocs de conduction unidirectionnels. Par-exemple, une région de l'OD fortement fibrotique risque de contenir des barrières anatomiques vis-à-vis des courants électriques. Ces modifications peuvent mener au phénomène de circuits de réentrée qui, selon la sévérité du remodelage, peut faire perdurer les arythmies. Considérant le fait que ces mêmes rats LTP avaient démontré des taux de fibrose auriculaire droite situés entre 30 et 50%, il est tout à fait possible que cela se traduise par des complications électrophysiologiques et une incapacité à retourner naturellement à un rythme sinusal lorsqu'une arythmie se déclenche.

La durée des épisodes de FA enregistrés pour les rats des différents groupes n'a montré qu'une légère augmentation non statistiquement significative à travers le temps. Chez quelques individus du groupe Jour 21, les arythmies se sont prolongées sur plusieurs minutes avant le retour au rythme sinusal. Dans une étude de 2011, Kim et al. ont rapporté qu'il n'y aurait pas de distinction significative dans les durées de FA en fonction du temps écoulé depuis la chirurgie pour leurs groupes de rats ayant une élévation de la surcharge du côté gauche du cœur générée par une sténose de l'aorte. Par contre, l'index d'inhomogénéité, correspondant aux écarts d'excitabilité cellulaire au sein de leurs tissus auriculaires, s'est imposé comme un bon indicateur de la durée des FA (Kim et al., 2011; Lammers et al., 1990). Cela ferait sens avec les quantités de fibrose mesurées dans les oreillettes des rats LTP qui ont connues une croissance avec le temps, le tissu auriculaire devenant ainsi de plus en plus propice aux blocs de conduction.

4.2.4.4 Paramètres électrophysiologiques *ex vivo*

Les données obtenues par cartographie optique de l'OD laissent croire que la dilatation et le tissu fibrotique de cette cavité occasionnent des anomalies électriques. La formation de plusieurs blocs dans le tissu de l'atrium droit des rats LTP engendrée par l'accumulation de myofibroblastes et de protéines propres à la MEC (collagène, fibronectine) (**Figure 15A**) est à l'origine de la diminution de la vitesse de conduction électrique (Harada & Nattel, 2021). En effet, la présence accrue de myofibroblastes contribue à cette baisse puisque le potentiel membranaire de ce type de cellules est plus faible que celui des CM et cause ainsi un ralentissement de la propagation (Campos et al., 2018; C. Li et al., 2020). L'altération de l'expression des connexines contribue aussi à ce phénomène. De plus, une étude clinique incluant une cartographie d'oreillettes de patients ayant des chirurgies à cœur ouvert a établi un lien statistique entre la FA et une réduction de la vitesse de conduction dans l'OD et l'OG (Heida et al., 2021). L'amplification de l'aire fibrotique de l'OD et de la vulnérabilité de la FA sont deux observations que faites chez les rats LTP, particulièrement au 21^e jour.

Le prolongement de la DPA80 dans l'OD des rats LTP est une conséquence directe de ce ralentissement de transmission électrique. Cependant, d'autres paramètres entrent en ligne de compte. Par exemple, l'expression diminuée de SERCA2A a par le passé été présentée comme une des causes d'un PA plus long chez des souris ayant un profil pro-inflammatoire (Y.-F. Hu et al., 2015). Une autre étude a démontré que chez des rats Wistar souffrant de diabète mellitus, une augmentation de la DPA80 était non seulement associée à une fibrose interstitielle auriculaire droite plus importante, mais aussi à une expression diminuée de connexines au niveau des atrioms telles que la connexine 40 (M. Watanabe et al., 2012). Bien que ces connexines n'aient pas été quantifiées, elles représentent une piste d'étude évidente pour un modèle de MCD, considérant l'inflammation auriculaire mesurée.

Le prolongement de la PRE chez les rats LTP, combiné avec celui de la DPA80, favorise l'apparition de délais dans le déclenchement du PA. En ajoutant les possibles réentrées causées par la fibrose et une régulation instable des canaux ioniques, l'OD est nettement plus susceptible aux déclenchements d'arythmies. Par contre, cette analyse est en opposition avec des données de

2022 obtenues sur un modèle canin d'HTAP pour lequel un raccourcissement de la PRE était observable chez les animaux ayant de la FA et un remodelage du cœur droit (Liu et al., 2022)

Comme pour les arythmies décrites durant les études électrophysiologiques, les épisodes de FA obtenus lors des séances de cartographie optique étaient eux aussi plus fréquents et plus longs chez les rats LTP jour 21. En fait, une croissance semblable à celle observée *in vivo* a été notée d'une date de sacrifice à l'autre.

4.2.5 Processus de sénescence dans un tissu cardiaque

La quantification de l'expression génique à travers le temps de trois marqueurs prédominants de la sénescence (*Cdkn1a*, *Cdkn2a*, *Tp53*) a dévoilé des tendances à la hausse dans les oreillettes de rats LTP.

Chez les rats LTP, l'expression de *Cdkn1a* était surtout plus élevée dans l'OD lors de la première semaine suivant la ligature. Cependant, il n'y a pas eu de variation significative dans les taux de *Cdkn1a*, que ce soit dans l'OD ou l'OG. Lors d'un projet clinique regroupant 26 patients FA (12 paroxystiques et 14 permanentes) et 12 patients RS, un morceau du tissu de l'appendice auriculaire gauche a été prélevé lors d'une chirurgie à cœur ouvert puis analysé par immunofluorescence, RPCq et immunobuvardage de type Western. Le taux d'ARNm qu'ils ont mesuré pour *Cdkn1a/p21* était plus élevé dans l'appendice de l'OG chez des patients qui présentaient de la FA de façon récurrente. Aussi, lors de cette même étude, les taux protéiques de p16, p21 et p53 étaient augmentés dans les tissus provenant patients FA en comparaison avec les contrôles (Adili et al., 2022).

Il y a donc lieu de supposer que la FA ou l'inflammation n'ont pas influencé l'expression de la protéine p21 dans les tissus auriculaires des rats LTP. Les augmentations d'ARNm de *Cdkn2a* vues chez les rats LTP aux jours 7 et 14 par rapport aux Sham vont dans ce sens. En plus d'être influencé par le statut inflammatoire, p16 contribue aussi à stimuler des processus inflammatoires par l'augmentation de DRO libres (Serra & Chetty, 2018). Similairement à p21, p16 est un suppresseur de tumeur puisqu'il met en pause la prolifération cellulaire. Cela n'a pas vraiment de

conséquences directes pour des CM, mais les désagréments physiologiques de l'état sénescence sont néanmoins présents en raison de protéines comme p21 ou p16.

Dans un modèle murin de surcharge de pression du VG, le taux de p53 au niveau cellulaire était plus élevé et a contribué à l'hypertrophie de cette cavité (Shimizu & Minamino, 2019). Compte tenu de l'hypertrophie ventriculaire droite et l'expression supérieure de *Tp53* chez les rats LTP au jour 0 du projet, une relation similaire du côté droit du cœur peut être supposée pour une fenêtre de temps restreinte. Le fait que l'expression génique de *Tp53* dans l'OD ait diminuée d'une semaine à une autre suggère que son influence sur le remodelage du cœur ainsi que sur le déclenchement de l'état sénescence s'est potentiellement atténué dans le temps. À l'exception des travaux de Jesel et al. (2019), peu de données existent sur les variations de p53 dans le tissu auriculaire droit en présence de symptômes normalement associés aux MCD (Jesel et al., 2019).

En lumière des observations faites durant ce projet, il est raisonnable de supposer que la fibrose auriculaire, l'état de sénescence ainsi que l'inflammation, dans une moindre mesure, observées lorsqu'un remodelage cardiaque droit est entamé peuvent contribuer, sous différents angles et à divers degrés, au développement d'une propension aux phénomènes arythmiques auriculaires. En tenant compte de ce possible lien, il apparaît essentiel de distinguer et comprendre les options actuellement disponibles dans le milieu médical ou pharmacologique pour traiter ces pathologies.

Le remodelage cardiaque droit chez les rats LTP et le dysfonctionnement qu'il implique peuvent éventuellement mener à une insuffisance cardiaque si les paramètres hémodynamiques tels que la pression artérielle pulmonaire ou structurels (ex : hypertrophie de la paroi du VD) ne sont pas rétablis. Également, la prédisposition aux phénomènes arythmiques qu'engendre la présence significative de fibrose au sein de l'OD en plus des taux de FA plus élevés enregistrés chez les rats LTP aux jours 14 et 21 comportent certains risques, notamment la formation de caillots sanguins pouvant être létaux.

Dans la section suivante seront présentés des stratégies thérapeutiques centrées sur le traitement des MCD ainsi que sur la FA. Cette exploration des traitements vise à fournir des informations et des références aux chercheurs sur leurs mécanismes d'action ainsi que sur leur applicabilité.

4.3 Résumé et avancements des approches thérapeutiques

À l'heure actuelle dans le milieu clinique, diverses avenues thérapeutiques sont disponibles pour les patients atteints de pathologies pouvant être qualifiées de MCD ainsi que ceux souffrant de FA, paroxystique ou permanente. Les traitements ou prises en charge connus incluent l'utilisation de médicaments ou des chirurgies de réparation.

4.3.1 Traitements de pathologies cardiaques droites

Selon la nature de la pathologie, les approches thérapeutiques privilégiées lors de la prise en charge peuvent grandement varier lorsqu'elles visent le cœur droit. Une multitude de maladies dont la cible principale n'est pas le cœur peuvent éventuellement avoir des effets néfastes irréversibles sur celui-ci. Dans le cœur droit, la génétique d'un individu ainsi que la circulation pulmonaire peuvent affecter sévèrement son fonctionnement.

4.3.1.1 Correction des cardiopathies congénitales

Des malformations congénitales comme la tétralogie de Fallot ou la sténose de la valve pulmonaire sont reconnues pour provoquer d'importants remodelages dans les cavités cardiaques droites en raison des perturbations hémodynamiques qu'elles entraînent (ex : shunt). Les effets négatifs de ces conditions surviennent généralement tôt dans la vie d'un individu atteint et les chirurgies réparatrices sont sérieusement considérées quand les anomalies sont présentes en très jeune âge (Van Der Ven et al., 2019). Typiquement, la réparation nécessaire pour une tétralogie de Fallot peut être de refermer la portion déficiente du septum interventriculaire ou un shunt lorsque la circulation pulmonaire est obstruée (Downing & Kim, 2015). Un remplacement de la valve pulmonaire peut même être requis dans certaines situation (Balzer, 2019).

4.3.1.2 Gestion de maladies pulmonaires

Plusieurs habitudes de vie nocives comme le tabagisme, l'obésité et la sédentarité ou des facteurs environnementaux tels que l'hérédité, l'exposition à un air pollué ou à des composés toxiques sont susceptibles d'accroître les risques d'apparition de pathologies pulmonaires chez un

individu. Les maladies de ce type peuvent être gérées, notamment par la prise de médicaments s'attaquant à la pathologie sous une panoplie d'angles.

Par exemple, plusieurs molécules médicamenteuses sont utilisables pour le traitement de l'HTAP : Les bloqueurs de canaux calciques voltage-dépendants réduisent la post-charge du VD ainsi que la contractilité de l'OD; les antagonistes aux récepteurs de l'endothéline restreignent la dilatation du VD tout en stimulant la vasoconstriction des artères pulmonaires; les prostanoides augmentent la vasodilatation pulmonaire via la voie de signalisation de la prostacycline; les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ainsi que les antagonistes aux récepteurs de l'angiotensine de type 1 favorisent une meilleure contractilité du VD (Ruopp & Cockrill, 2022; Tello et al., 2021). Tel que vu chez les rats LTP de cette étude, une post-charge élevée du VD génère des modifications structurelles pouvant être néfastes à la santé cardiovasculaire droite sur le long terme. Une approche de diminution de cette post-charge est donc intéressante lorsqu'une intervention au niveau du réseau vasculaire pulmonaire est impossible pour diverses raisons.

Les thérapies médicamenteuses prescrites pour la MPOC diffèrent de celles de l'HTAP, mais permettent, elles aussi, de diminuer les conséquences sur le cœur. Selon la littérature, les agonistes bêta 2, les anticholinergiques, les corticostéroïdes et les macrolides (antibiotiques) sont des options viables en aidant au maintien de la fonction pulmonaire et en réduisant les potentielles dyspnées (Simons et al., 2021).

Un peu comme pour le traitement de la FA, il est primordial de tenir compte des autres problématiques ou thérapies d'un patient afin de déterminer la stratégie de soin la plus appropriée. Les changements de certaines habitudes de vie nuisibles sont d'autant plus importants dans cette optique car ils peuvent diminuer les chances qu'une intervention chirurgicale ou que de la médication ne deviennent nécessaires.

4.3.2 Gestion de la FA

Différentes options sont à la portée d'un patient nécessitant des soins à la suite d'un diagnostic de FA. Le développement de FA étant une des conséquences possibles d'une MCD, il peut être judicieux d'évaluer comment prendre en charge cette forme d'arythmie en parallèle de la détérioration du cœur droit. D'ailleurs, l'augmentation dans le temps de la fréquence de FA enregistrées chez les rats LTP témoigne de ce risque. Si la prise de médicaments est considérée dans le traitement, deux grands axes d'approche existent : le contrôle du rythme et la gestion du processus de coagulation.

4.3.2.1 Antiarythmiques

D'abord, pour le contrôle du rythme, l'utilisation de molécules médicamenteuses antiarythmiques peut être recommandée, mais les potentielles interactions avec d'autres médicaments doivent être prises en considération pour éviter toutes complications indésirables. Des exemples de tels médicaments sont le flécaïnide et l'amiodarone. Le flécaïnide est un agent antiarythmique qui favorise un retour vers un rythme sinusal en réduisant la conduction électrique dans le tissu cardiaque. Il est donc préférable d'éviter cette avenue thérapeutique lorsqu'un patient présente des signes d'insuffisance cardiaque ou d'ischémie du myocarde (Lip & Apostolakis, 2014). L'amiodarone va agir directement sur certains canaux ioniques dont le niveau d'expression va typiquement augmenter dans l'atrium en contexte de FA et va les bloquer. Il est vu comme un médicament antiarythmique plus efficace par rapport aux autres de cette même classe, mais comporte tout de même des risques. Plus particulièrement, des patients ayant des conditions pathologiques pulmonaires comme l'HTP ou l'HTAP peuvent être à risque en raison de la toxicité du médicament dans ce tissu se traduisant par une augmentation de la fibrose (Istratoaie et al., 2021).

4.3.2.2 Anticoagulants

Une des principales complications létales d'une FA demeurant non-traitée est la formation de caillots sanguins résultant de la stagnation du sang en raison de contractions auriculaires insuffisantes et désorganisées. L'emploi d'anticoagulants est le traitement de première ligne pour les patients vulnérables aux thrombus puisque ceux-ci peuvent causer un AVC (Richardson et al.,

2021). Parmi les médicaments qui sont approuvés pour la prise en charge d'une FA ou d'un AVC, on retrouve le dabigatran. Ce médicament administré par voie orale est un inhibiteur de la thrombine, une enzyme qui participe au processus de coagulation en transformant le fibrinogène en fibrine, ce qui empêche la formation de thrombus. De plus, les dosages généralement recommandés pour ce traitement ont de faibles risques d'hémorragies, une conséquence majeure pouvant survenir lors d'une diminution de la coagulation (Blair & Keating, 2017). Une autre classe de médicaments anticoagulants utilisés de routine quand un patient présente de la FA sont les inhibiteurs du facteur Xa, une enzyme transformant la prothrombine en thrombine dans la cascade coagulation. Les plus populaires sont le rivaroxaban ainsi que l'apixaban en raison de leur faculté à diminuer les risques d'AVC, surtout l'apixaban (Proietti et al., 2018).

En plus du dabigatran ou du rivaroxaban/apixaban, un autre exemple connu de ce type de médication est la warfarine. Elle va inhiber l'action de certains facteurs de coagulation qui utilisent normalement la vitamine K pour assurer leur fonctionnement (Ababneh et al., 2021). À l'instar d'une médication antiarythmique, les médicaments anticoagulants nécessitent une utilisation prudente lorsqu'utilisées en combinaison avec d'autres médicaments. À titre d'exemple, un suivi rigoureux des patients déjà traités pour la gestion d'une HTP est requis chez des patients présentant aussi de la FA afin d'éviter que des interactions entre certains médicaments n'occasionnent des complications sérieuses. Un médicament reflétant cette problématique est l'amioradone, un antiarythmique inhibant l'action des cytochromes P450 qui sont des enzymes participant typiquement au métabolisme de toxines/médicaments. L'amioradone se combine difficilement avec d'autres médicaments anticoagulants, particulièrement si une pathologie pulmonaire est connue car il va contribuer à l'élévation de la pression dans la circulation pulmonaire (Hiram & Provencher, 2021). D'un côté, le patient est supporté pour sa FA, mais de l'autre, sa condition pulmonaire peut s'aggraver. Il faut également être en mesure de renverser les effets anticoagulants si une urgence se présente. Cela peut se faire par administration de vitamine K ou simplement par un arrêt de la prise du médicament (Blair & Keating, 2017).

4.3.2.3 Ablation par cathéter

Du côté chirurgical, l'ablation d'une oreillette par cathéter à radiofréquence est réalisée de routine en cas d'inefficacité de traitements à base de médicaments. Cette procédure consistant à brûler des zones propices à l'installation de substrats arythmogènes a fait ses preuves dans la prévention du déclenchement de FA. De manière générale, elle est souvent faite autour du site de connexion entre les veines pulmonaires et l'OG (Quintanilla et al., 2021). C'est également une pratique chirurgicale recommandée autant pour les patients présentant de la FA paroxysmale ou persistante (Parameswaran et al., 2021). Cependant, du côté de l'OD, les régions tissulaires propices à la création de FA sont moins évidentes que du côté gauche du cœur (Hiram & Provencher, 2021).

4.3.2.4 Bloqueurs de canaux ioniques

En plus des choix de thérapies pour la FA énumérés précédemment, une autre avenue intéressante est celle impliquant une intervention au niveau des canaux ioniques sodiques, calciques et potassiques ou même des protéines en charge de la machinerie calcique au sein des CM (RYR2, SERCA2a, PLB). Compte tenu de leur participation active dans l'électrophysiologie du cœur, un dérèglement dans la concentration ionique peut avoir des conséquences amplifiées si le tissu touché est déjà affaibli dans sa structure ou sa fonction par une autre condition pathologique. Les traitements basés sur ces notions théoriques demeurent pour l'instant très expérimentaux et plutôt préventifs car ils comportent certains risques de tachyarythmies. Par exemple, on retrouve actuellement des bloqueurs du courant potassique lent

I_{Ks} , tels que l'azimilide, le chromanol HMR-1556 ou des bloqueurs de multiples courants comme AZD7009 qui inhibent les courants sodiques I_{Na} et potassiques rapides I_{Kr} (Jost et al., 2021).

Davantage de recherche sur ce sujet pourrait permettre aux cliniciens d'approcher les arythmies sous un nouvel angle en ayant le moins d'effets adverses possibles.

4.3.3 Thérapies basées sur le contrôle de l'inflammation et de la fibrose

Une dernière facette du traitement des MCD et de la FA pertinent à aborder est la résolution ou la réduction des processus inflammatoires et fibrotiques. Comme il fut observé chez les rats LTP démontrant une fragilité face à la FA et des symptômes relatifs aux MCD, l'inflammation et la fibrose qu'elles induisent contribuent à l'exacerbation de leur pathologie.

Des cytokines bien documentées comme NLRP3, IL1 β , IL6 et TGF- β ont vu leur expression relativement augmenter chez les rats LTP à certains moments en comparaison avec les rats Sham correspondants. Leur implication dans la FA et l'HTAP laisse supposer qu'une approche thérapeutique à base d'anti-inflammatoires pourrait être envisageable en complément des thérapies déjà établies en clinique (Hiram & Provencher, 2021). Une intervention au niveau de l'inflammation du tissu pourrait aussi diminuer indirectement le taux de différenciation des fibroblastes en myofibroblastes et ainsi minimiser les risques de formation d'un substrat arythmogène persistant dans l'oreillette.

4.4 Limitations de l'étude

4.4.1 Considération des variabilités liées au sexe biologique

Une des principales limitations du projet est l'absence d'animaux femelles. Effectivement, il a déjà été démontré, que ce soit chez l'humain ou chez certaines espèces animales fréquemment utilisées en recherche, que la réponse du cœur à une pathologie peut varier significativement entre les sexes, surtout en raison des distinctions hormonales (Regitz-Zagrosek & Kararigas, 2017). C'est également le cas pour le remodelage qui a lieu au niveau du VD lors d'une surcharge de pression sanguine. Une étude de 2022 comparant les changements fonctionnels et structurels ventriculaires droits de rats ayant eu une chirurgie LTP a permis de présenter certaines différences intersexuelles, particulièrement concernant la fibrose, les capacités contractiles et la compliance de la cavité (Cheng et al., 2022). En effet, les travaux de cette même équipe de recherche ont permis de démontrer que pour les rats LTP, le VD des femelles conservait une meilleure contractilité et fonction systolique malgré l'hypertension (à l'instar de ce qui est vu chez

l'humain), le taux de collagène était plus élevé dans le VD des mâles et ils étaient plus susceptibles de mourir de leur condition en raison de mécanismes d'adaptations du VD différents de ceux des femelles.

Chez l'humain, il a déjà été démontré que l'œstrogène peut modifier substantiellement certains paramètres du VD et de la circulation pulmonaire, affectant ainsi la réponse des femmes à certaines pathologies, comme l'hypertension pulmonaire. L'œstrogène permet de mieux répondre aux pathologies de la circulation pulmonaire, mais ne fournit pas une protection préventive. Pour ce faire, l'estradiol, une forme spécifique d'œstrogène, va interagir avec les récepteurs à l'estradiol (ER), RE α et RE β , afin d'influencer la transcription génique. Ces récepteurs sont exprimés notamment dans les vaisseaux pulmonaires, mais aussi dans le tissu cardiaque. Sur des rongeurs, il a été observé que cette hormone procure aux femelles une résistance aux processus inflammatoires, au développement de fibrose ainsi qu'à l'apoptose en plus d'avoir des propriétés pro-contractiles pour le muscle cardiaque. L'action de l'estradiol implique d'ailleurs un mécanisme anti-inflammatoire consistant à réduire l'expression de TNF- α et la chimiotaxie des neutrophiles sollicités. Conséquemment, cela aide à contenir l'exacerbation du tissu fibrotique au niveau du cœur (Rodriguez-Arias & García-Álvarez, 2021). La détérioration de la fonction ventriculaire droite lors d'une MCD peut donc être nettement ralentie par la présence d'œstrogène, ou même la réduction de testostérone (Ling et al., 2012).

La vulnérabilité au développement de FA semble être elle aussi affectée par le sexe d'un individu, avec une incidence généralement plus faible chez les femmes (Chang et al., 2021; Siddiqi et al., 2022; Westerman & Wenger, 2019). Il aurait donc été potentiellement révélateur de comparer l'évolution de l'inflammation arythmogène dans les oreillettes de rats mâles avec celle des rats femelles lorsque ceux-ci présentent des signes de MCD. Différentes tendances pourraient être décrites. L'utilisation d'animaux femelles est approuvée dans le protocole de déontologie animale qui encadre le projet. Ainsi, dans le futur, des données seront simultanément obtenues chez des animaux mâles et femelles dans le cadre d'un nouveau volet de ce projet impliquant l'utilisation de rats LTP.

4.4.2 Évaluation détaillée des paramètres hémodynamiques

En plus du gradient de pression mesuré de part et d'autre de la valve pulmonaire par échocardiographie, l'inclusion d'un volet hémodynamique comportant une mesure directe de la pression du côté droit du cœur aurait pu être intéressante. Cela aurait donné l'opportunité de voir l'impact qu'une constriction du tronc pulmonaire peut avoir sur ce paramètre. Considérant qu'une HTAP est validée par échocardiographie lorsque la pression dans le tronc pulmonaire est supérieure à 20 mmHg, les valeurs obtenus à partir du 7^e jour post-chirurgie confirment la pathologie (Ruopp & Cockrill, 2022) étant donné que le gradient est d'au moins 22 mmHg. Cela permettait de suffisamment mesurer le remodelage morphologique du cœur sans avoir recours à des méthodes invasives, telles que la mesure de pression par cathéter.

En revanche, aucune donnée ne permet d'affirmer que la pression du VD ait augmentée de manière significative en raison d'une post-charge accentuée chirurgicalement, à l'exception de son remodelage structurel quantifié par analyses histologiques et par échocardiographie. Afin d'obtenir des valeurs pour la pression ventriculaire et pour voir si elle est soutenue dans le temps, des mesures hémodynamiques seront effectuées sur des rats de jour 0 à 21. Ces informations seront présentées dans l'article de recherche associé à mon projet de maîtrise.

4.4.3 Retrait de la ligature du tronc pulmonaire artériel

Une autre avenue qui aurait pu être explorée est celle du « debanding », c'est-à-dire du retrait de la ligature. Cela impliquerait d'enlever chirurgicalement la ligature du tronc pulmonaire au jour 7 post-chirurgie, par exemple, puis attendre 7 autres jours avant de procéder au sacrifice de l'animal. En retirant la ligature après un certain temps, il aurait été possible de mesurer la résolution cardiaque droit aux niveaux structurelle (dimensions OD et VD), tissulaire (fibrose) et inflammatoire (expression génique/protéique de cytokines pro-inflammatoires). Il serait intéressant de voir si certaines tendances néfastes du remodelage pourraient être renversées par un retour à une post-charge du VD normale. De plus, l'étude d'un debanding du tronc pulmonaire pourrait permettre d'obtenir divers renseignements sur l'existence ou non d'une atténuation des facteurs contribuant à la vulnérabilité aux épisodes de FA.

4.4.4 Étude des connexines et de protéines inflammatoires supplémentaires

Afin d'obtenir une meilleure compréhension des mécanismes pro-arythmiques dans un modèle de MCD, il aurait été pertinent d'inclure une quantification de l'expression protéique de connexines auriculaires (Cx40, Cx43) formant les jonctions communicantes entre les CM ou d'autres protéines pro-inflammatoires comme TNF- α , NF- κ B qui n'ont pas été directement étudiées dans le cadre actuel du projet (C. Li et al., 2020). En effet, la littérature mentionne que ces connexines, vitales à la transmission du potentiel d'action, peuvent avoir une expression altérées en plus d'être relocalisées/latéralisées lorsqu'un individu présente de la FA (Y.-F. Hu et al., 2015; Nattel et al., 2020; Thibault et al., 2022). Compte tenu des variations observées au niveau de l'expression des gènes de canaux ioniques, des informations sur les connexines viendraient compléter ce qui a été mesuré par rapport au remodelage électrique de l'atrium. Ces informations seront obtenues dans le très court terme, grâce aux méthodes automatisées de quantification génique (ex : microarrays/puces à ADN) et protéique (ex : immunoessais/ELISA).

Chapitre 5 – Conclusion

Les MCD et la FA étant deux pathologies relativement répandues dans la population, la compréhension des multiples mécanismes responsables de leur mise en place est vitale à leur prévention. Les facteurs de risque de ces maladies étant fortement ancrés dans les habitudes de vie, la prévention est un outil critique à la réduction de leur incidence. Néanmoins, le poids que les MCD et la FA exercent sur le système de santé n'est pas négligeable et la recherche de nouvelles avenues thérapeutiques est pertinente.

Le modèle animal de MCD à l'étude a su démontrer des modifications structurelles, hémodynamiques, tissulaires, électriques, géniques et protéiques qui sont typiquement intrinsèques à ce que l'on peut voir chez d'autres modèles du même type ou chez des patients qui sont atteints de telles pathologies. L'aspect temporel de ce projet a pu mettre en lumière comment ces facettes des MCD varient sur trois semaines ainsi que leur influence sur l'inflammation arythmogène.

Au terme de la collecte de données, la dynamique existante entre les MCD, la FA et l'inflammation est plus compréhensible. Dès la chirurgie LTP, les rats ont démontré un remodelage cardiaque droit conséquent, générant ainsi une agression chronique envers les tissus auriculaires et ventriculaires droits. Cet endommagement est à l'origine du déclenchement de plusieurs processus pro-inflammatoires et pro-fibrotiques qui ont non seulement fragilisés le tissu en lui-même, mais qui l'ont aussi transformé. En effet, l'expansion substantielle de fibrose cardiaque combinée avec l'étirement des parois des cavités ont affaiblis les capacités contractiles du cœur droit. Les circuits électriques auriculaires ont été compromis par ces changements et leur vulnérabilité aux phénomènes arythmiques, surtout la FA, n'a fait qu'augmenter dans le temps. La FA représente un chaos au sein des patrons contractiles de l'OD, occasionnant donc une détérioration du tissu cardiaque, parallèlement aux dégâts provoqués par la LTP.

Les découvertes réalisées dans le cadre de ce projet permettent de proposer que la MCD créée chirurgicalement est le point de départ d'un profil fibrotique arythmogène chez les rats, mais que la FA contribue partiellement à son maintien. Le fait que quelques marqueurs pro-inflammatoires

voient leur expression amplifiée au 14^e jour avant de diminuer au 21^e jour laisse croire qu'une force externe à la hausse de pression chronique participe aussi au remodelage. Pour les marqueurs pro-fibrotiques, c'est plutôt au 7^e jour qu'un phénomène similaire se produit.

Concernant l'hypothèse initiale selon laquelle l'inflammation arythmogène auriculaire augmenterait de manière constante, ce n'est pas ce qui a été observé. En fait, l'expression génique de marqueurs inflammatoires s'est intensifiée au courant des premiers jours post-chirurgie avant de diminuer puis se stabiliser à un niveau plus haut que le niveau basal alors qu'au niveau protéique, aucun changement significatif n'a été mesuré pour IL-1 β . La vulnérabilité aux phénomènes arythmiques auriculaires a quant à elle augmenté tout au long des trois semaines d'étude. Les impacts structuraux provenant de la chirurgie LTP se sont aggravés d'une semaine à l'autre sans qu'il n'y ait de résolution, laissant croire qu'une insuffisance cardiaque droite éventuelle pourrait survenir.

L'acquisition de connaissances précieuses sur la chronologie du remodelage cardiaque, de l'expression d'un certain nombre de gènes/protéines ainsi que du profil arythmique de l'OD dans un contexte de MCD a permis de mettre en lumière certaines variations temporelles de processus pro-inflammatoires, pro-sénescents et pro-fibrotiques tout en obtenant un portrait global des paramètres électrophysiologiques du modèle de rat LTP. Ces données pourraient fournir de nouvelles pistes d'études dans la recherche axée sur l'élaboration de thérapies pour la FA se développant en présence de pathologies de la circulation pulmonaire.

Références bibliographiques

Ababneh, M., Nasser, S. A., Rababa'h, A., & Ababneh, F. (2021). Warfarin adherence and anticoagulation control in atrial fibrillation patients : A systematic review. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 25(24), 7926-7933. https://doi.org/10.26355/eurrev_202112_27642

Adili, A., Zhu, X., Cao, H., Tang, X., Wang, Y., Wang, J., Shi, J., Zhou, Q., & Wang, D. (2022). Atrial Fibrillation Underlies Cardiomyocyte Senescence and Contributes to Deleterious Atrial Remodeling during Disease Progression. *Aging and Disease*, 13(1), 298. <https://doi.org/10.14336/AD.2021.0619>

Akazawa, Y., Okumura, K., Ishii, R., Slorach, C., Hui, W., Ide, H., Honjo, O., Sun, M., Kabir, G., Connelly, K., & Friedberg, M. K. (2020). Pulmonary artery banding is a relevant model to study the right ventricular remodeling and dysfunction that occurs in pulmonary arterial hypertension. *Journal of Applied Physiology*, 129(2), 238-246. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00148.2020>

Alonso, A., & Norby, F. L. (2016). Predicting Atrial Fibrillation and Its Complications. *Circulation Journal*, 80(5), 1061-1066. <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-16-0239>

Alpert, M. A., Omran, J., & Bostick, B. P. (2016). Effects of Obesity on Cardiovascular Hemodynamics, Cardiac Morphology, and Ventricular Function. *Current Obesity Reports*, 5(4), 424-434. <https://doi.org/10.1007/s13679-016-0235-6>

Ameri, P., Bertero, E., Meliota, G., Cheli, M., Canepa, M., Brunelli, C., & Balbi, M. (2016). Neurohormonal activation and pharmacological inhibition in pulmonary arterial hypertension and related right ventricular failure. *Heart Failure Reviews*, 21(5), 539-547. <https://doi.org/10.1007/s10741-016-9566-3>

Amin, A. S., & Bhuiyan, Z. A. (2010). SCN5A mutations in atrial fibrillation. *Heart Rhythm*, 7(12), 1870-1871. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2010.09.012>

Andersen, S., Nielsen-Kudsk, J. E., Vonk Noordegraaf, A., & De Man, F. S. (2019). Right Ventricular Fibrosis : A Pathophysiological Factor in Pulmonary Hypertension? *Circulation*, *139*(2), 269-285. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035326>

Andrade, J. G., Aguilar, M., Atzema, C., Bell, A., Cairns, J. A., Cheung, C. C., Cox, J. L., Dorian, P., Gladstone, D. J., Healey, J. S., Khairy, P., Leblanc, K., McMurtry, M. S., Mitchell, L. B., Nair, G. M., Nattel, S., Parkash, R., Pilote, L., Sandhu, R. K., ... Macle, L. (2020). The 2020 Canadian Cardiovascular Society/Canadian Heart Rhythm Society Comprehensive Guidelines for the Management of Atrial Fibrillation. *Canadian Journal of Cardiology*, *36*(12), 1847-1948. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2020.09.001>

Aronsen, J. M., Louch, W. E., & Sjaastad, I. (2016). Cardiomyocyte Ca²⁺ dynamics : Clinical perspectives. *Scandinavian Cardiovascular Journal*, *50*(2), 65-77. <https://doi.org/10.3109/14017431.2015.1136079>

Asosingh, K., & Erzurum, S. (2018). Mechanisms of right heart disease in pulmonary hypertension (2017 Grover Conference Series). *Pulmonary Circulation*, *8*(1), 1-6. <https://doi.org/10.1177/2045893217753121>

Balzer, D. (2019). Pulmonary Valve Replacement for Tetralogy of Fallot. *Methodist DeBaakey Cardiovascular Journal*, *15*(2), 122. <https://doi.org/10.14797/mdcj-15-2-122>

Bekedam, F. T., Smit, M. C., Vonk Noordegraaf, A., Bogaard, H. J., Goumans, M. J., De Man, F. S., & Lucia-Valldeperas, A. (2022). Abstract 13105 : The Effect of Mechanical Stress on Cardiac Fibroblasts in Pulmonary Arterial Hypertension. *Circulation*, *146*(Suppl_1). https://doi.org/10.1161/circ.146.suppl_1.13105

Beyer, C., Tokarska, L., Stühlinger, M., Feuchtner, G., Hintringer, F., Honold, S., Fiedler, L., Schönbauer, M.-S., Schönbauer, R., & Plank, F. (2021). Structural Cardiac Remodeling in Atrial Fibrillation. *JACC: Cardiovascular Imaging*, *14*(11), 2199-2208. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2021.04.027>

Biernacka, A., Dobaczewski, M., & Frangogiannis, N. G. (2011). TGF- β signaling in fibrosis. *Growth Factors*, *29*(5), 196-202. <https://doi.org/10.3109/08977194.2011.595714>

Blair, H. A., & Keating, G. M. (2017). Dabigatran Etxilate : A Review in Nonvalvular Atrial Fibrillation. *Drugs*, 77(3), 331-344. <https://doi.org/10.1007/s40265-017-0699-z>

Boengler, K., Rohrbach, S., Weissmann, N., & Schulz, R. (2021). Importance of Cx43 for Right Ventricular Function. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 987. <https://doi.org/10.3390/ijms22030987>

Borgdorff, M. A. J., Dickinson, M. G., Berger, R. M. F., & Bartelds, B. (2015). Right ventricular failure due to chronic pressure load : What have we learned in animal models since the NIH working group statement? *Heart Failure Reviews*, 20(4), 475-491. <https://doi.org/10.1007/s10741-015-9479-6>

Bukowska, A., Zacharias, I., Weinert, S., Skopp, K., Hartmann, C., Huth, C., & Goette, A. (2013). Coagulation factor Xa induces an inflammatory signalling by activation of protease-activated receptors in human atrial tissue. *European Journal of Pharmacology*, 718(1-3), 114-123. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.09.006>

Bustin, S. A., Benes, V., Garson, J. A., Hellemans, J., Huggett, J., Kubista, M., Mueller, R., Nolan, T., Pfaffl, M. W., Shipley, G. L., Vandesompele, J., & Wittwer, C. T. (2009). The MIQE Guidelines : Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. *Clinical Chemistry*, 55(4), 611-622. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>

Caivano, D., Rishniw, M., Biretoni, F., Petrescu, V.-F., & Porciello, F. (2020). Transverse Right Ventricle Strain and Strain Rate Assessed by 2-Dimensional Speckle Tracking Echocardiography in Dogs with Pulmonary Hypertension. *Veterinary Sciences*, 7(1), 19. <https://doi.org/10.3390/vetsci7010019>

Calvo, D., Filgueiras-Rama, D., & Jalife, J. (2018). Mechanisms and Drug Development in Atrial Fibrillation. *Pharmacological Reviews*, 70(3), 505-525. <https://doi.org/10.1124/pr.117.014183>

Campos, F. O., Shiferaw, Y., Weber Dos Santos, R., Plank, G., & Bishop, M. J. (2018). Microscopic Isthmuses and Fibrosis Within the Border Zone of Infarcted Hearts Promote Calcium-Mediated Ectopy and Conduction Block. *Frontiers in Physics*, 6, 57. <https://doi.org/10.3389/fphy.2018.00057>

Carlisle, M. A., Fudim, M., DeVore, A. D., & Piccini, J. P. (2019). Heart Failure and Atrial Fibrillation, Like Fire and Fury. *JACC: Heart Failure*, 7(6), 447-456. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2019.03.005>

Cassady, S. J., & Ramani, G. V. (2020). Right Heart Failure in Pulmonary Hypertension. *Cardiology Clinics*, 38(2), 243-255. <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2020.02.001>

Chang, Y.-T., Chen, Y.-L., & Kang, H.-Y. (2021). Revealing the Influences of Sex Hormones and Sex Differences in Atrial Fibrillation and Vascular Cognitive Impairment. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 8776. <https://doi.org/10.3390/ijms22168776>

Chatterjee, N. A., Giulianini, F., Geelhoed, B., Lunetta, K. L., Misialek, J. R., Niemeijer, M. N., Rienstra, M., Rose, L. M., Smith, A. V., Arking, D. E., Ellinor, P. T., Heeringa, J., Lin, H., Lubitz, S. A., Soliman, E. Z., Verweij, N., Alonso, A., Benjamin, E. J., Gudnason, V., ... Albert, C. M. (2017). Genetic Obesity and the Risk of Atrial Fibrillation : Causal Estimates from Mendelian Randomization. *Circulation*, 135(8), 741-754. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.024921>

Cheng, T.-C., Tabima, D. M., Caggiano, L. R., Frump, A. L., Hacker, T. A., Eickhoff, J. C., Lahm, T., & Chesler, N. C. (2022). Sex differences in right ventricular adaptation to pressure overload in a rat model. *Journal of Applied Physiology*, 132(3), 888-901. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00175.2021>

Choudhury, M., Institute of Cardiovascular Sciences, University of Manchester, Manchester, UK, Boyett, M. R., Institute of Cardiovascular Sciences, University of Manchester, Manchester, UK, Morris, G. M., & Institute of Cardiovascular Sciences, University of Manchester, 46 Grafton Street, Manchester, M13 9NT, UK. E: Gwilym.Morris@manchester.ac.uk. (2015). Biology of the Sinus Node and its Disease. *Arrhythmia & Electrophysiology Review*, 4(1), 28. <https://doi.org/10.15420/aer.2015.4.1.28>

Chung, M. K., Eckhardt, L. L., Chen, L. Y., Ahmed, H. M., Gopinathannair, R., Joglar, J. A., Noseworthy, P. A., Pack, Q. R., Sanders, P., Trulock, K. M., & On behalf of the American Heart Association Electrocardiography and Arrhythmias Committee and Exercise, Cardiac Rehabilitation, and Secondary Prevention Committee of the Council on Clinical Cardiology; Council on Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology; Council on Cardiovascular and

Stroke Nursing; and Council on Lifestyle and Cardiometabolic Health. (2020). Lifestyle and Risk Factor Modification for Reduction of Atrial Fibrillation : A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*, *141*(16). <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000748>

Conti, V., Migliorini, F., Pilone, M., Barriopedro, M. I., Ramos-Álvarez, J. J., Montero, F. J. C., & Maffulli, N. (2021). Right heart exercise-training-adaptation and remodelling in endurance athletes. *Scientific Reports*, *11*(1), 22532. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02028-1>

De Wit, S., Aboumsallem, J. P., Shi, C., Schouten, E. M., Bracun, V., Meijers, W. C., Silljé, H. H. W., & De Boer, R. A. (2023). Pressure Overload–Induced Cardiac Hypertrophy Stimulates Tumor Growth in Tumor-Prone *Apc*^{Min} Mice. *Circulation: Heart Failure*, *16*(9). <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.123.010740>

DeSimone, C. V., Naksuk, N., & Asirvatham, S. J. (2018). Supraventricular Arrhythmias : Clinical Framework and Common Scenarios for the Internist. *Mayo Clinic Proceedings*, *93*(12), 1825-1841. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.07.019>

Dignam, J. P., Scott, T. E., Kemp-Harper, B. K., & Hobbs, A. J. (2022). Animal models of pulmonary hypertension : Getting to the heart of the problem. *British Journal of Pharmacology*, *179*(5), 811-837. <https://doi.org/10.1111/bph.15444>

Dilaveris, P., Antoniou, C.-K., Manolakou, P., Tsiamis, E., Gatzoulis, K., & Tousoulis, D. (2019). Biomarkers Associated with Atrial Fibrosis and Remodeling. *Current Medicinal Chemistry*, *26*(5), 780-802. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170918122502>

Dixit, G., Dabney-Smith, C., & Lorigan, G. A. (2020). The membrane protein KCNQ1 potassium ion channel : Functional diversity and current structural insights. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, *1862*(5), 183148. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2019.183148>

Dobrev, D., Heijman, J., Hiram, R., Li, N., & Nattel, S. (2023). Inflammatory signalling in atrial cardiomyocytes : A novel unifying principle in atrial fibrillation pathophysiology. *Nature Reviews Cardiology*, *20*(3), 145-167. <https://doi.org/10.1038/s41569-022-00759-w>

Downing, T. E., & Kim, Y. Y. (2015). Tetralogy of Fallot. *Cardiology Clinics*, *33*(4), 531-541. <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2015.07.002>

Drakopoulou, M., Nashat, H., Kempny, A., Alonso-Gonzalez, R., Swan, L., Wort, S. J., Price, L. C., McCabe, C., Wong, T., Gatzoulis, M. A., Ernst, S., & Dimopoulos, K. (2018). Arrhythmias in adult patients with congenital heart disease and pulmonary arterial hypertension. *Heart*, *104*(23), 1963-1969. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2017-312881>

Eaton, S. L., Roche, S. L., Llaverro Hurtado, M., Oldknow, K. J., Farquharson, C., Gillingwater, T. H., & Wishart, T. M. (2013). Total Protein Analysis as a Reliable Loading Control for Quantitative Fluorescent Western Blotting. *PLoS ONE*, *8*(8), e72457. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072457>

Egbe, A. C., Miranda, W. R., Ammash, N. M., Ananthaneni, S., Sandhyavenu, H., Farouk Abdelsamid, M., Yogeswaran, V., Kapa, S., Fatola, A., Kothapalli, S., & Connolly, H. M. (2019). Atrial Fibrillation Therapy and Heart Failure Hospitalization in Adults With Tetralogy of Fallot. *JACC: Clinical Electrophysiology*, *5*(5), 618-625. <https://doi.org/10.1016/j.jacep.2019.01.005>

El-Shetry, M., Mahfouz, R., Frere, A.-F., & Abdeldayem, M. (2021). The interplay between atrial fibrillation and acute myocardial infarction. *British Journal of Hospital Medicine*, *82*(2), 1-9. <https://doi.org/10.12968/hmed.2020.0584>

Fawcett, K. A., & Barroso, I. (2010). The genetics of obesity : FTO leads the way. *Trends in Genetics*, *26*(6), 266-274. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2010.02.006>

Fowler, E. D., & Zissimopoulos, S. (2022). Molecular, Subcellular, and Arrhythmogenic Mechanisms in Genetic RyR2 Disease. *Biomolecules*, *12*(8), 1030. <https://doi.org/10.3390/biom12081030>

Frangogiannis, N. G. (2017). 14. Fibroblasts and the extracellular matrix in right ventricular disease. *Cardiovascular Research*, *113*(12), 1453-1464. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvx146>

Frangogiannis, N. G. (2021). Cardiac fibrosis. *Cardiovascular Research*, *117*(6), 1450-1488. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa324>

Gillis, A. M., & Dobrev, D. (2022). Targeting the RyR2 to Prevent Atrial Fibrillation. *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*, *15*(10). <https://doi.org/10.1161/CIRCEP.122.011514>

Goette, A., & Lendeckel, U. (2021). Atrial Cardiomyopathy : Pathophysiology and Clinical Consequences. *Cells*, 10(10), 2605. <https://doi.org/10.3390/cells10102605>

Gorenek, B., Birdane, A., Kudaiberdieva, G., Goktekin, O., Cavusoglu, Y., Unalir, A., Ata, N., & Timuralp, B. (2003). P Wave Amplitude and Duration may Predict Immediate Recurrence of Atrial Fibrillation After Internal Cardioversion. *Annals of Noninvasive Electrocardiology*, 8(3), 215-218. <https://doi.org/10.1046/j.1542-474X.2003.08308.x>

Goudis, C. A. (2017). Chronic obstructive pulmonary disease and atrial fibrillation : An unknown relationship. *Journal of Cardiology*, 69(5), 699-705. <https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2016.12.013>

Gunturiz-Beltrán, C., Nuñez-Garcia, M., Althoff, T. F., Borràs, R., Figueras I Ventura, R. M., Garre, P., Caixal, G., Prat-González, S., Perea, R. J., Benito, E. M., Tolosana, J. M., Arbelo, E., Roca-Luque, I., Brugada, J., Sitges, M., Mont, L., & Guasch, E. (2022). Progressive and Simultaneous Right and Left Atrial Remodeling Uncovered by a Comprehensive Magnetic Resonance Assessment in Atrial Fibrillation. *Journal of the American Heart Association*, 11(20), e026028. <https://doi.org/10.1161/JAHA.122.026028>

Guo, G., Watterson, S., Zhang, S.-D., Bjourson, A., McGilligan, V., Peace, A., & Rai, T. S. (2021). The role of senescence in the pathogenesis of atrial fibrillation : A target process for health improvement and drug development. *Ageing Research Reviews*, 69, 101363. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101363>

Gupta, V., Munjal, J. S., Jhaji, P., Jhaji, S., & Jain, R. (2022). Obesity and Atrial Fibrillation : A Narrative Review. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.31205>

Guta, A. C., Badano, L. P., Tomaselli, M., Mihalcea, D., Bartos, D., Parati, G., & Muraru, D. (2021). The Pathophysiological Link between Right Atrial Remodeling and Functional Tricuspid Regurgitation in Patients with Atrial Fibrillation : A Three-Dimensional Echocardiography Study. *Journal of the American Society of Echocardiography*, 34(6), 585-594.e1. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2021.01.004>

Gutierrez, C., & Blanchard, D. G. (2016). Diagnosis and Treatment of Atrial Fibrillation. *Atrial Fibrillation*, 94(6).

Halade, G. V., & Lee, D. H. (2022). Inflammation and resolution signaling in cardiac repair and heart failure. *eBioMedicine*, 79, 103992. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.103992>

Hall, C., Gehmlich, K., Denning, C., & Pavlovic, D. (2021). Complex Relationship Between Cardiac Fibroblasts and Cardiomyocytes in Health and Disease. *Journal of the American Heart Association*, 10(5), e019338. <https://doi.org/10.1161/JAHA.120.019338>

Harada, M., & Nattel, S. (2021). Implications of Inflammation and Fibrosis in Atrial Fibrillation Pathophysiology. *Cardiac Electrophysiology Clinics*, 13(1), 25-35. <https://doi.org/10.1016/j.ccep.2020.11.002>

Harada, M., Van Wagoner, D. R., & Nattel, S. (2015). Role of Inflammation in Atrial Fibrillation Pathophysiology and Management. *Circulation Journal*, 79(3), 495-502. <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-15-0138>

Heida, A., Van Schie, M. S., Van Der Does, W. F. B., Taverne, Y. J. H. J., Bogers, A. J. J. C., & De Groot, N. M. S. (2021). Reduction of Conduction Velocity in Patients with Atrial Fibrillation. *Journal of Clinical Medicine*, 10(12), 2614. <https://doi.org/10.3390/jcm10122614>

Hiram, R., Naud, P., Xiong, F., Al-u'datt, D., Algalarrondo, V., Sirois, M. G., Tanguay, J.-F., Tardif, J.-C., & Nattel, S. (2019). Right Atrial Mechanisms of Atrial Fibrillation in a Rat Model of Right Heart Disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 74(10), 1332-1347. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.06.066>

Hiram, R., & Provencher, S. (2021). Pulmonary Disease, Pulmonary Hypertension and Atrial Fibrillation. *Cardiac Electrophysiology Clinics*, 13(1), 141-153. <https://doi.org/10.1016/j.ccep.2020.10.001>

Hirata, M., Ousaka, D., Arai, S., Okuyama, M., Tarui, S., Kobayashi, J., Kasahara, S., & Sano, S. (2015). Novel Model of Pulmonary Artery Banding Leading to Right Heart Failure in Rats. *BioMed Research International*, 2015, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2015/753210>

Hopman, L. H. G. A., Visch, J. E., Bhagirath, P., Van Der Laan, A. M., Mulder, M. J., Razeghi, O., Kemme, M. J. B., Niederer, S. A., Allaart, C. P., & Götter, M. J. W. (2023). Right atrial function and

fibrosis in relation to successful atrial fibrillation ablation. *European Heart Journal - Cardiovascular Imaging*, 24(3), 336-345. <https://doi.org/10.1093/ehjci/jeac152>

Hu, D., Cui, Y.-X., Wu, M.-Y., Li, L., Su, L.-N., Lian, Z., & Chen, H. (2020). Cytosolic DNA sensor cGAS plays an essential pathogenetic role in pressure overload-induced heart failure. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 318(6), H1525-H1537. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00097.2020>

Hu, Y.-F., Chen, Y.-J., Lin, Y.-J., & Chen, S.-A. (2015). Inflammation and the pathogenesis of atrial fibrillation. *Nature Reviews Cardiology*, 12(4), 230-243. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2015.2>

Huang, W., Hickson, L. J., Eirin, A., Kirkland, J. L., & Lerman, L. O. (2022). Cellular senescence : The good, the bad and the unknown. *Nature Reviews Nephrology*, 18(10), 611-627. <https://doi.org/10.1038/s41581-022-00601-z>

Ihara, K., & Sasano, T. (2022). Role of Inflammation in the Pathogenesis of Atrial Fibrillation. *Frontiers in Physiology*, 13, 862164. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.862164>

Istratoaie, S., Sabin, O., Vesa, Ștefan C., Cismaru, G., Donca, V. I., & Buzoianu, A. D. (2021). Efficacy of amiodarone for the prevention of atrial fibrillation recurrence after cardioversion. *Cardiovascular Journal of Africa*, 32(6), 41-52. <https://doi.org/10.5830/CVJA-2020-060>

Jame, S., & Barnes, G. (2020). Stroke and thromboembolism prevention in atrial fibrillation. *Heart*, 106(1), 10-17. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2019-314898>

Jesel, L., Abbas, M., Park, S.-H., Matsushita, K., Kindo, M., Hasan, H., Auger, C., Sato, C., Ohlmann, P., Mazzucotelli, J.-P., Toti, F., Kauffenstein, G., Schini-Kerth, V., & Morel, O. (2019). Atrial Fibrillation Progression Is Associated with Cell Senescence Burden as Determined by p53 and p16 Expression. *Journal of Clinical Medicine*, 9(1), 36. <https://doi.org/10.3390/jcm9010036>

Jost, N., Christ, T., & Magyar, J. (2021). New Strategies for the Treatment of Atrial Fibrillation. *Pharmaceuticals*, 14(9), 926. <https://doi.org/10.3390/ph14090926>

Kapłon-Cieślicka, A., Budnik, M., Gawałko, M., Peller, M., Gorczyca, I., Michalska, A., Babiarczyk, A., Bodys, A., Uliński, R., Żochowski, M., Scisło, P., Kochanowski, J., Filipiak, K. J., & Opolski, G. (2019).

Atrial fibrillation type and renal dysfunction as important predictors of left atrial thrombus. *Heart*, 105(17), 1310-1315. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2018-314492>

Kawai, T., & Akira, S. (2007). Signaling to NF- κ B by Toll-like receptors. *Trends in Molecular Medicine*, 13(11), 460-469. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2007.09.002>

Kervadec, A., Kezos, J., Ni, H., Yu, M., Marchant, J., Spiering, S., Kannan, S., Kwon, C., Andersen, P., Bodmer, R., Grandi, E., Ocorr, K., & Colas, A. R. (2023). Multiplatform modeling of atrial fibrillation identifies phospholamban as a central regulator of cardiac rhythm. *Disease Models & Mechanisms*, 16(7), dmm049962. <https://doi.org/10.1242/dmm.049962>

Kim, S.-J., Choisy, S. C. M., Barman, P., Zhang, H., Hancox, J. C., Jones, S. A., & James, A. F. (2011). Atrial Remodeling and the Substrate for Atrial Fibrillation in Rat Hearts With Elevated Afterload. *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*, 4(5), 761-769. <https://doi.org/10.1161/CIRCEP.111.964783>

Korantzopoulos, P., Letsas, K. P., Tse, G., Fragakis, N., Goudis, C. A., & Liu, T. (2018). Inflammation and atrial fibrillation : A comprehensive review. *Journal of Arrhythmia*, 34(4), 394-401. <https://doi.org/10.1002/joa3.12077>

Kornej, J., Börschel, C. S., Benjamin, E. J., & Schnabel, R. B. (2020). Epidemiology of Atrial Fibrillation in the 21st Century : Novel Methods and New Insights. *Circulation Research*, 127(1), 4-20. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.316340>

Koyama, T., Ono, K., Watanabe, H., Ohba, T., Murakami, M., Iino, K., & Ito, H. (2009). *Molecular and Electrical Remodeling of L- and T-Type Ca²⁺ Channels in Rat Right Atrium With Monocrotaline-Induced Pulmonary Hypertension.*

Krieger, E. V., Zeppenfeld, K., DeWitt, E. S., Duarte, V. E., Egbe, A. C., Haeffele, C., Lin, K. Y., Robinson, M. R., Sillman, C., Upadhyay, S., & on behalf of the American Heart Association Adults With Congenital Heart Disease Committee of the Council on Lifelong Congenital Heart Disease and Heart Health in the Young and Council on Clinical Cardiology. (2022). Arrhythmias in Repaired Tetralogy of Fallot : A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*, 15(11). <https://doi.org/10.1161/HAE.0000000000000084>

Kubiczkova, L., Sedlarikova, L., Hajek, R., & Sevcikova, S. (2012). TGF- β – an excellent servant but a bad master. *Journal of Translational Medicine*, *10*(1), 183. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-10-183>

Kushnir, A., Wajsborg, B., & Marks, A. R. (2018). Ryanodine receptor dysfunction in human disorders. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, *1865*(11), 1687-1697. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.07.011>

Lammers, W. J., Schalij, M. J., Kirchhof, C. J., & Allessie, M. A. (1990). Quantification of spatial inhomogeneity in conduction and initiation of reentrant atrial arrhythmias. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, *259*(4), H1254-H1263. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1990.259.4.H1254>

Li, C., Zhang, J., Hu, W., & Li, S. (2020). Atrial fibrosis underlying atrial fibrillation (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, *47*(3), 9. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2020.4842>

Li, M., Hou, Q., Zhong, L., Zhao, Y., & Fu, X. (2021). Macrophage Related Chronic Inflammation in Non-Healing Wounds. *Frontiers in Immunology*, *12*, 681710. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.681710>

Lichtman, M. K., Otero-Vinas, M., & Falanga, V. (2016). Transforming growth factor beta (TGF- β) isoforms in wound healing and fibrosis. *Wound Repair and Regeneration*, *24*(2), 215-222. <https://doi.org/10.1111/wrr.12398>

Lijnen, P. J., Petrov, V. V., & Fagard, R. H. (2000). Induction of Cardiac Fibrosis by Transforming Growth Factor- β 1. *Molecular Genetics and Metabolism*, *71*(1-2), 418-435. <https://doi.org/10.1006/mgme.2000.3032>

Ling, Y., Johnson, M. K., Kiely, D. G., Condliffe, R., Elliot, C. A., Gibbs, J. S. R., Howard, L. S., Pepke-Zaba, J., Sheares, K. K. K., Corris, P. A., Fisher, A. J., Lordan, J. L., Gaine, S., Coghlan, J. G., Wort, S. J., Gatzoulis, M. A., & Peacock, A. J. (2012). Changing Demographics, Epidemiology, and Survival of Incident Pulmonary Arterial Hypertension : Results from the Pulmonary Hypertension Registry of the United Kingdom and Ireland. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *186*(8), 790-796. <https://doi.org/10.1164/rccm.201203-0383OC>

Linz, D., Nattel, S., Kalman, J. M., & Sanders, P. (2021). Sleep Apnea and Atrial Fibrillation. *Cardiac Electrophysiology Clinics*, 13(1), 87-94. <https://doi.org/10.1016/j.ccep.2020.10.003>

Lip, G. Y. H., & Apostolakis, S. (2014). Atrial fibrillation (acute onset). *BMJ Clinical Evidence*, 2014, 0210.

Liu, Y., Zhu, X., Song, Z., Qin, M., Xu, C., & Liu, X. (2022). *Right atrial mechanism contributes to atrial fibrillation in a canine model of pulmonary arterial hypertension* [Preprint]. *Physiology*. <https://doi.org/10.1101/2022.02.19.481116>

Logantha, S. J. R. J., Yamanushi, T. T., Absi, M., Temple, I. P., Kabuto, H., Hirakawa, E., Quigley, G., Zhang, X., Gurney, A. M., Hart, G., Zhang, H., Dobrzynski, H., Boyett, M. R., & Yanni, J. (2023). Remodelling and dysfunction of the sinus node in pulmonary arterial hypertension. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 378(1879), 20220178. <https://doi.org/10.1098/rstb.2022.0178>

Lucia Agoston-Coldea, Dana Petrovai, Isabella Mihalcea, Radu Revnic, Teodora Mocan, & Silvia Lupu. (2015). Right Atrium Volume Index in Patients with Secondary Pulmonary Hypertension Due to Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Acta Cardiologica Sinica*, 31(4). <https://doi.org/10.6515/ACS20150119A>

Mackie, A. S., Fournier, A., Swan, L., Marelli, A. J., & Kovacs, A. H. (2019). Transition and Transfer From Pediatric to Adult Congenital Heart Disease Care in Canada: Call For Strategic Implementation. *Canadian Journal of Cardiology*, 35(12), 1640-1651. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2019.08.014>

MacLennan, D. H., & Kranias, E. G. (2003). Phospholamban: A crucial regulator of cardiac contractility. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 4(7), 566-577. <https://doi.org/10.1038/nrm1151>

Mandras, S. A., Mehta, H. S., & Vaidya, A. (2020). Pulmonary Hypertension: A Brief Guide for Clinicians. *Mayo Clinic Proceedings*, 95(9), 1978-1988. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.04.039>

Marchini, F., Meossi, S., Passarini, G., Campo, G., & Pavasini, R. (2023). Pulmonary Valve Stenosis : From Diagnosis to Current Management Techniques and Future Prospects. *Vascular Health and Risk Management, Volume 19*, 379-390. <https://doi.org/10.2147/VHRM.S380240>

Marelli, A., Beauchesne, L., Colman, J., Ducas, R., Grewal, J., Keir, M., Khairy, P., Oechslin, E., Therrien, J., Vonder Muhll, I. F., Wald, R. M., Silversides, C., Barron, D. J., Benson, L., Bernier, P.-L., Horlick, E., Ibrahim, R., Martucci, G., Nair, K., ... Webb, G. D. (2022). Canadian Cardiovascular Society 2022 Guidelines for Cardiovascular Interventions in Adults With Congenital Heart Disease. *Canadian Journal of Cardiology, 38*(7), 862-896. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2022.03.021>

Marian, A. J., & Braunwald, E. (2017). Hypertrophic Cardiomyopathy : Genetics, Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Therapy. *Circulation Research, 121*(7), 749-770. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.311059>

Mercurio, V., Peloquin, G., Bourji, K. I., Diab, N., Sato, T., Enobun, B., Housten-Harris, T., Damico, R., Kolb, T. M., Mathai, S. C., Tedford, R. J., Tocchetti, C. G., & Hassoun, P. M. (2018). Pulmonary arterial hypertension and atrial arrhythmias : Incidence, risk factors, and clinical impact. *Pulmonary Circulation, 8*(2), 1-8. <https://doi.org/10.1177/2045894018769874>

Michalski, T. A., Pszczola, J., Lisowska, A., Knapp, M., Sobkowicz, B., Kaminski, K., & Ptaszynska-Kopczynska, K. (2022). ECG in the clinical and prognostic evaluation of patients with pulmonary arterial hypertension : An underestimated value. *Therapeutic Advances in Respiratory Disease, 16*, 175346662210878. <https://doi.org/10.1177/17534666221087846>

Middeldorp, M. E., Kamsani, S. H., & Sanders, P. (2023). Obesity and atrial fibrillation : Prevalence, pathogenesis, and prognosis. *Progress in Cardiovascular Diseases, 78*, 34-42. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2023.04.010>

Migdady, I., Russman, A., & Buletko, A. B. (2021). Atrial Fibrillation and Ischemic Stroke : A Clinical Review. *Seminars in Neurology, 41*(04), 348-364. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1726332>

Mou, L., Norby, F. L., Chen, L. Y., O'Neal, W. T., Lewis, T. T., Loehr, L. R., Soliman, E. Z., & Alonso, A. (2018). Lifetime Risk of Atrial Fibrillation by Race and Socioeconomic Status : ARIC Study

(Atherosclerosis Risk in Communities). *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*, 11(7), e006350. <https://doi.org/10.1161/CIRCEP.118.006350>

Müller, J., Gorressen, S., Grandoch, M., Feldmann, K., Kretschmer, I., Lehr, S., Ding, Z., Schmitt, J. P., Schrader, J., Garbers, C., Heusch, G., Kelm, M., Scheller, J., & Fischer, J. W. (2014). Interleukin-6-dependent phenotypic modulation of cardiac fibroblasts after acute myocardial infarction. *Basic Research in Cardiology*, 109(6), 440. <https://doi.org/10.1007/s00395-014-0440-y>

Muñoz-Espín, D., & Serrano, M. (2014). Cellular senescence : From physiology to pathology. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(7), 482-496. <https://doi.org/10.1038/nrm3823>

Murakata, Y., Yamagami, F., Murakoshi, N., Xu, D., Song, Z., Li, S., Okabe, Y., Aonuma, K., Yuan, Z., Mori, H., Aonuma, K., Tajiri, K., & Ieda, M. (2023). Electrical, structural, and autonomic atrial remodeling underlies atrial fibrillation in inflammatory atrial cardiomyopathy. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 9, 1075358. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.1075358>

Murphy, M. B., Kim, K., Kannankeril, P. J., Subati, T., Van Amburg, J. C., Barnett, J. V., & Murray, K. T. (2022). Optimizing transesophageal atrial pacing in mice to detect atrial fibrillation. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 322(1), H36-H43. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00434.2021>

Mutluer, F. O., & Çeliker, A. (2018). General Concepts in Adult Congenital Heart Disease. *Balkan Medical Journal*, 35(1), 18-29. <https://doi.org/10.4274/balkanmedj.2017.0910>

Naeije, R., Richter, M. J., & Rubin, L. J. (2022). The physiological basis of pulmonary arterial hypertension. *European Respiratory Journal*, 59(6), 2102334. <https://doi.org/10.1183/13993003.02334-2021>

Nattel, S., Heijman, J., Zhou, L., & Dobrev, D. (2020). Molecular Basis of Atrial Fibrillation Pathophysiology and Therapy : A Translational Perspective. *Circulation Research*, 127(1), 51-72. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.316363>

Nemes, A., & Kormányos, Á. (2023). Right atrial volumes and strains in healthy adults : Is the Frank-Starling mechanism working?—detailed analysis from the three-dimensional speckle-

tracking echocardiographic MAGYAR-Healthy Study. *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*, 13(2), 825-834. <https://doi.org/10.21037/qims-22-307>

Ninh, V. K., & Brown, J. H. (2021). The contribution of the cardiomyocyte to tissue inflammation in cardiomyopathies. *Current Opinion in Physiology*, 19, 129-134. <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2020.10.003>

Okutucu, S., & Gorenek, B. (2022). Current Recommendations on Atrial Fibrillation : A Comparison of the Recent European and Canadian Guidelines. *Cardiology*, 147(1), 81-89. <https://doi.org/10.1159/000519465>

Olivier, A., Pitt, B., Girerd, N., Lamiral, Z., Machu, J., McMurray, J. J. V., Swedberg, K., Van Veldhuisen, D. J., Collier, T. J., Pocock, S. J., Rossignol, P., Zannad, F., & Pizard, A. (2017). Effect of eplerenone in patients with heart failure and reduced ejection fraction : Potential effect modification by abdominal obesity. Insight from the EMPHASIS-HF trial. *European Journal of Heart Failure*, 19(9), 1186-1197. <https://doi.org/10.1002/ejhf.792>

Olsson, K. M., Nickel, N. P., Tongers, J., & Hoeper, M. M. (2013). Atrial flutter and fibrillation in patients with pulmonary hypertension. *International Journal of Cardiology*, 167(5), 2300-2305. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.06.024>

Palasubramaniam, J., Wang, X., & Peter, K. (2019). Myocardial Infarction—From Atherosclerosis to Thrombosis : Uncovering New Diagnostic and Therapeutic Approaches. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 39(8). <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.119.312578>

Parameswaran, R., Al-Kaisey, A. M., & Kalman, J. M. (2021). Catheter ablation for atrial fibrillation : Current indications and evolving technologies. *Nature Reviews Cardiology*, 18(3), 210-225. <https://doi.org/10.1038/s41569-020-00451-x>

Patel, P., Dokainish, H., Tsai, P., & Lakkis, N. (2010). Update on the Association of Inflammation and Atrial Fibrillation. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 21(9), 1064-1070. <https://doi.org/10.1111/j.1540-8167.2010.01774.x>

Pena, E., Brito, J., El Alam, S., & Siques, P. (2020). Oxidative Stress, Kinase Activity and Inflammatory Implications in Right Ventricular Hypertrophy and Heart Failure under Hypobaric

Hypoxia. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 6421.
<https://doi.org/10.3390/ijms21176421>

Pezone, A., Olivieri, F., Napoli, M. V., Procopio, A., Avvedimento, E. V., & Gabrielli, A. (2023). Inflammation and DNA damage : Cause, effect or both. *Nature Reviews Rheumatology*, 19(4), 200-211. <https://doi.org/10.1038/s41584-022-00905-1>

Pinsky, M. R. (2016). The right ventricle : Interaction with the pulmonary circulation. *Critical Care*, 20(1), 266. <https://doi.org/10.1186/s13054-016-1440-0>

Prabhu, S. D., & Frangogiannis, N. G. (2016). The Biological Basis for Cardiac Repair After Myocardial Infarction : From Inflammation to Fibrosis. *Circulation Research*, 119(1), 91-112. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.303577>

Priest, B. T., & McDermott, J. S. (2015). Cardiac ion channels. *Channels*, 9(6), 352-359. <https://doi.org/10.1080/19336950.2015.1076597>

Prihadi, E. A., Delgado, V., Leon, M. B., Enriquez-Sarano, M., Topilsky, Y., & Bax, J. J. (2019). Morphologic Types of Tricuspid Regurgitation. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 12(3), 491-499. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2018.09.027>

Proietti, M., Romanazzi, I., Romiti, G. F., Farcomeni, A., & Lip, G. Y. H. (2018). Real-World Use of Apixaban for Stroke Prevention in Atrial Fibrillation : A Systematic Review and Meta-Analysis. *Stroke*, 49(1), 98-106. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.117.018395>

Quintanilla, J. G., Shpun, S., Jalife, J., & Filgueiras-Rama, D. (2021). Novel approaches to mechanism-based atrial fibrillation ablation. *Cardiovascular Research*, 117(7), 1662-1681. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvab108>

Rathinam, V. A. K., & Chan, F. K.-M. (2018). Inflammasome, Inflammation, and Tissue Homeostasis. *Trends in Molecular Medicine*, 24(3), 304-318. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2018.01.004>

Regitz-Zagrosek, V., & Kararigas, G. (2017). Mechanistic Pathways of Sex Differences in Cardiovascular Disease. *Physiological Reviews*, 97(1), 1-37. <https://doi.org/10.1152/physrev.00021.2015>

Reil, J.-C., Hohl, M., Selejan, S., Lipp, P., Drautz, F., Kazakow, A., Münz, B. M., Müller, P., Steendijk, P., Reil, G.-H., Allessie, M. A., Böhm, M., & Neuberger, H.-R. (2012). Aldosterone promotes atrial fibrillation. *European Heart Journal*, 33(16), 2098-2108. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr266>

Richardson, A. C., Omar, M., Velarde, G., Missov, E., Percy, R., & Sattiraju, S. (2021). Right Atrial Appendage Thrombus in Atrial Fibrillation : A Case Report and Review of the Literature. *Journal of Investigative Medicine High Impact Case Reports*, 9, 232470962110100. <https://doi.org/10.1177/23247096211010048>

Richter, M. J., Fortuni, F., Alenezi, F., D'Alto, M., Badagliacca, R., Brunner, N. W., Van Dijk, A. P., Douschan, P., Gall, H., Ghio, S., Giudice, F. L., Grünig, E., Haddad, F., Howard, L., Rajagopal, S., Stens, N., Stolfo, D., Thijssen, D. H. J., Vizza, C. D., ... Tello, K. (2023). Imaging the right atrium in pulmonary hypertension : A systematic review and meta-analysis. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, 42(4), 433-446. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2022.11.007>

Rodriguez-Arias, J. J., & García-Álvarez, A. (2021). Sex Differences in Pulmonary Hypertension. *Frontiers in Aging*, 2, 727558. <https://doi.org/10.3389/fragi.2021.727558>

Romero-Corral, A., Caples, S. M., Lopez-Jimenez, F., & Somers, V. K. (2010). Interactions Between Obesity and Obstructive Sleep Apnea. *Chest*, 137(3), 711-719. <https://doi.org/10.1378/chest.09-0360>

Ross, J. (1976). Afterload mismatch and preload reserve : A conceptual framework for the analysis of ventricular function. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 18(4), 255-264. [https://doi.org/10.1016/0033-0620\(76\)90021-9](https://doi.org/10.1016/0033-0620(76)90021-9)

Ruopp, N. F., & Cockrill, B. A. (2022). Diagnosis and Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension : A Review. *JAMA*, 327(14), 1379. <https://doi.org/10.1001/jama.2022.4402>

Sagris, M., Vardas, E. P., Theofilis, P., Antonopoulos, A. S., Oikonomou, E., & Tousoulis, D. (2021). Atrial Fibrillation : Pathogenesis, Predisposing Factors, and Genetics. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 6. <https://doi.org/10.3390/ijms23010006>

Sammut, M. A., Condliffe, R., Elliot, C., Hameed, A., Lewis, R., Kiely, D. G., Kyriacou, A., Middleton, J. T., Raithatha, A., Rothman, A., Thompson, A. A. R., Turner, R., & Charalampopoulos, A. (2023). Atrial flutter and fibrillation in patients with pulmonary arterial hypertension or chronic thromboembolic pulmonary hypertension in the ASPIRE registry : Comparison of rate versus rhythm control approaches. *International Journal of Cardiology*, 371, 363-370. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2022.09.031>

Sanguinetti, M. C., & Seebohm, G. (2021). Physiological Functions, Biophysical Properties, and Regulation of KCNQ1 (KV7.1) Potassium Channels. In L. Zhou (Éd.), *Ion Channels in Biophysics and Physiology* (Vol. 1349, p. 335-353). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-4254-8_15

Savio-Galimberti, E., & Darbar, D. (2014). Atrial Fibrillation and SCN5A Variants. *Cardiac Electrophysiology Clinics*, 6(4), 741-748. <https://doi.org/10.1016/j.ccep.2014.07.006>

Schimmel, K., Ichimura, K., Reddy, S., Haddad, F., & Spiekerkoetter, E. (2022). Cardiac Fibrosis in the Pressure Overloaded Left and Right Ventricle as a Therapeutic Target. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 9, 886553. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.886553>

Schmeißer, A., Rauwolf, T., Groscheck, T., Fischbach, K., Kropf, S., Luani, B., Tanev, I., Hansen, M., Meißler, S., Schäfer, K., Steendijk, P., & Braun-Dullaeus, R. C. (2021). Predictors and prognosis of right ventricular function in pulmonary hypertension due to heart failure with reduced ejection fraction. *ESC Heart Failure*, 8(4), 2968-2981. <https://doi.org/10.1002/ehf2.13386>

Schuster, S., Cabrera, D., Arrese, M., & Feldstein, A. E. (2018). Triggering and resolution of inflammation in NASH. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 15(6), 349-364. <https://doi.org/10.1038/s41575-018-0009-6>

Seccia, T. M., Caroccia, B., Maiolino, G., Cesari, M., & Rossi, G. P. (2019). Arterial Hypertension, Aldosterone, and Atrial Fibrillation. *Current Hypertension Reports*, 21(12), 94. <https://doi.org/10.1007/s11906-019-1001-4>

Serra, S., & Chetty, R. (2018). P16. *Journal of Clinical Pathology*, 71(10), 853-858. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2018-205216>

Sethwala, A. M., Goh, I., & Amerena, J. V. (2021). Combating Inflammation in Cardiovascular Disease. *Heart, Lung and Circulation*, 30(2), 197-206. <https://doi.org/10.1016/j.hlc.2020.09.003>

Severino, P., Mariani, M. V., Maraone, A., Piro, A., Ceccacci, A., Tarsitani, L., Maestrini, V., Mancone, M., Lavallo, C., Pasquini, M., & Fedele, F. (2019). Triggers for Atrial Fibrillation : The Role of Anxiety. *Cardiology Research and Practice*, 2019, 1-5. <https://doi.org/10.1155/2019/1208505>

Shimizu, I., & Minamino, T. (2019). Cellular senescence in cardiac diseases. *Journal of Cardiology*, 74(4), 313-319. <https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2019.05.002>

Siddiqi, H. K., Vinayagamoorthy, M., Gencer, B., Ng, C., Pester, J., Cook, N. R., Lee, I.-M., Buring, J., Manson, J. E., & Albert, C. M. (2022). Sex Differences in Atrial Fibrillation Risk : The VITAL Rhythm Study. *JAMA Cardiology*, 7(10), 1027. <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2022.2825>

Simons, S. O., Elliott, A., Sastry, M., Hendriks, J. M., Arzt, M., Rienstra, M., Kalman, J. M., Heidbuchel, H., Nattel, S., Wesseling, G., Schotten, U., van Gelder, I. C., Franssen, F. M. E., Sanders, P., Crijns, H. J. G. M., & Linz, D. (2021). Chronic obstructive pulmonary disease and atrial fibrillation : An interdisciplinary perspective. *European Heart Journal*, 42(5), 532-540. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa822>

Skjelboe, A. K., Bandholm, T. Q., Hakmann, S., Mourier, M., Kalleose, T., & Dixen, U. (2017). Cardiovascular exercise and burden of arrhythmia in patients with atrial fibrillation—A randomized controlled trial. *PLOS ONE*, 12(2), e0170060. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170060>

Sohns, C., & Marrouche, N. F. (2020). Atrial fibrillation and cardiac fibrosis. *European Heart Journal*, 41(10), 1123-1131. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz786>

Sozzi, F. B., Gherbesi, E., Faggiano, A., Gnan, E., Maruccio, A., Schiavone, M., Iacuzio, L., & Carugo, S. (2022). Viral Myocarditis : Classification, Diagnosis, and Clinical Implications. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, *9*, 908663. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.908663>

Stein, M., Noorman, M., Van Veen, T. A. B., Herold, E., Engelen, M. A., Boulaksil, M., Antoons, G., Jansen, J. A., Van Oosterhout, M. F. M., Hauer, R. N. W., De Bakker, J. M. T., & Van Rijen, H. V. M. (2008). Dominant arrhythmia vulnerability of the right ventricle in senescent mice. *Heart Rhythm*, *5*(3), 438-448. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2007.10.033>

Striessnig, J., Pinggera, A., Kaur, G., Bock, G., & Tuluc, P. (2014). L-type Ca²⁺ channels in heart and brain. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Membrane Transport and Signaling*, *3*(2), 15-38. <https://doi.org/10.1002/wmts.102>

Suetomi, T., Willeford, A., Brand, C. S., Cho, Y., Ross, R. S., Miyamoto, S., & Brown, J. H. (2018). Inflammation and NLRP3 Inflammasome Activation Initiated in Response to Pressure Overload by Ca²⁺ /Calmodulin-Dependent Protein Kinase II δ Signaling in Cardiomyocytes Are Essential for Adverse Cardiac Remodeling. *Circulation*, *138*(22), 2530-2544. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.034621>

Sun, Z., Zhou, D., Xie, X., Wang, S., Wang, Z., Zhao, W., Xu, H., & Zheng, L. (2016). Cross-talk between macrophages and atrial myocytes in atrial fibrillation. *Basic Research in Cardiology*, *111*(6), 63. <https://doi.org/10.1007/s00395-016-0584-z>

Suzuki, K. (2019). Chronic Inflammation as an Immunological Abnormality and Effectiveness of Exercise. *Biomolecules*, *9*(6), 223. <https://doi.org/10.3390/biom9060223>

Tadic, M., Cuspidi, C., Bombelli, M., & Grassi, G. (2018). Right heart remodeling induced by arterial hypertension : Could strain assessment be helpful? *The Journal of Clinical Hypertension*, *20*(2), 400-407. <https://doi.org/10.1111/jch.13186>

Takagi, T., Nakamura, K., Hashimoto, H., Asami, M., Ishii, R., Enomoto, Y., Moroi, M., Noro, M., Sugi, K., & Nakamura, M. (2020). The impact of sleep apnea on right atrial structural remodeling with atrial fibrillation. *Journal of Cardiology*, *75*(6), 665-672. <https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2019.12.012>

- Tan, A. Y., & Zimetbaum, P. (2010). Atrial Fibrillation and Atrial Fibrosis. *Journal of Cardiovascular Pharmacology, Publish Ahead of Print*. <https://doi.org/10.1097/FJC.0b013e318207a572>
- Tang, X., Li, P.-H., & Chen, H.-Z. (2020). Cardiomyocyte Senescence and Cellular Communications Within Myocardial Microenvironments. *Frontiers in Endocrinology, 11*, 280. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00280>
- Tello, K., Seeger, W., Naeije, R., Vanderpool, R., Ghofrani, H. A., Richter, M., Tedford, R. J., & Bogaard, H. J. (2021). Right heart failure in pulmonary hypertension : Diagnosis and new perspectives on vascular and direct right ventricular treatment. *British Journal of Pharmacology, 178*(1), 90-107. <https://doi.org/10.1111/bph.14866>
- Temple, I. P. (2017). Arrhythmias in pulmonary arterial hypertension. *Journal of Congenital Cardiology, 1*(1), 2. <https://doi.org/10.1186/s40949-017-0004-8>
- Thandavarayan, R. A., Chitturi, K. R., & Guha, A. (2020). Pathophysiology of Acute and Chronic Right Heart Failure. *Cardiology Clinics, 38*(2), 149-160. <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2020.01.009>
- Thibault, S., Ton, A.-T., Huynh, F., & Fiset, C. (2022). Connexin Lateralization Contributes to Male Susceptibility to Atrial Fibrillation. *International Journal of Molecular Sciences, 23*(18), 10696. <https://doi.org/10.3390/ijms231810696>
- Thomas, B. J., Kan-o, K., Loveland, K. L., Elias, J. A., & Bardin, P. G. (2016). In the Shadow of Fibrosis : Innate Immune Suppression Mediated by Transforming Growth Factor- β . *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology, 55*(6), 759-766. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2016-0248PS>
- Thomas, L. (2003). Atrial structural remodelling and restoration of atrial contraction after linear ablation for atrial fibrillation. *European Heart Journal, 24*(21), 1942-1951. <https://doi.org/10.1016/j.ehj.2003.08.018>
- Tsutsui, H., Kinugawa, S., & Matsushima, S. (2011). *Oxidative stress and heart failure. 301.*

Tuleta, I., & Frangogiannis, N. G. (2021). Fibrosis of the diabetic heart : Clinical significance, molecular mechanisms, and therapeutic opportunities. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 176, 113904. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113904>

Utsunomiya, H., Nakatani, S., Okada, T., Kanzaki, H., Kyotani, S., Nakanishi, N., Kihara, Y., & Kitakaze, M. (2011). A simple method to predict impaired right ventricular performance and disease severity in chronic pulmonary hypertension using strain rate imaging. *International Journal of Cardiology*, 147(1), 88-94. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2009.08.009>

Van Der Ven, J. P. G., Van Den Bosch, E., Bogers, A. J. C. C., & Helbing, W. A. (2019). Current outcomes and treatment of tetralogy of Fallot. *F1000Research*, 8, 1530. <https://doi.org/10.12688/f1000research.17174.1>

Ventetuolo, C. E., & Klinger, J. R. (2014). Management of Acute Right Ventricular Failure in the Intensive Care Unit. *Annals of the American Thoracic Society*, 11(5), 811-822. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201312-446FR>

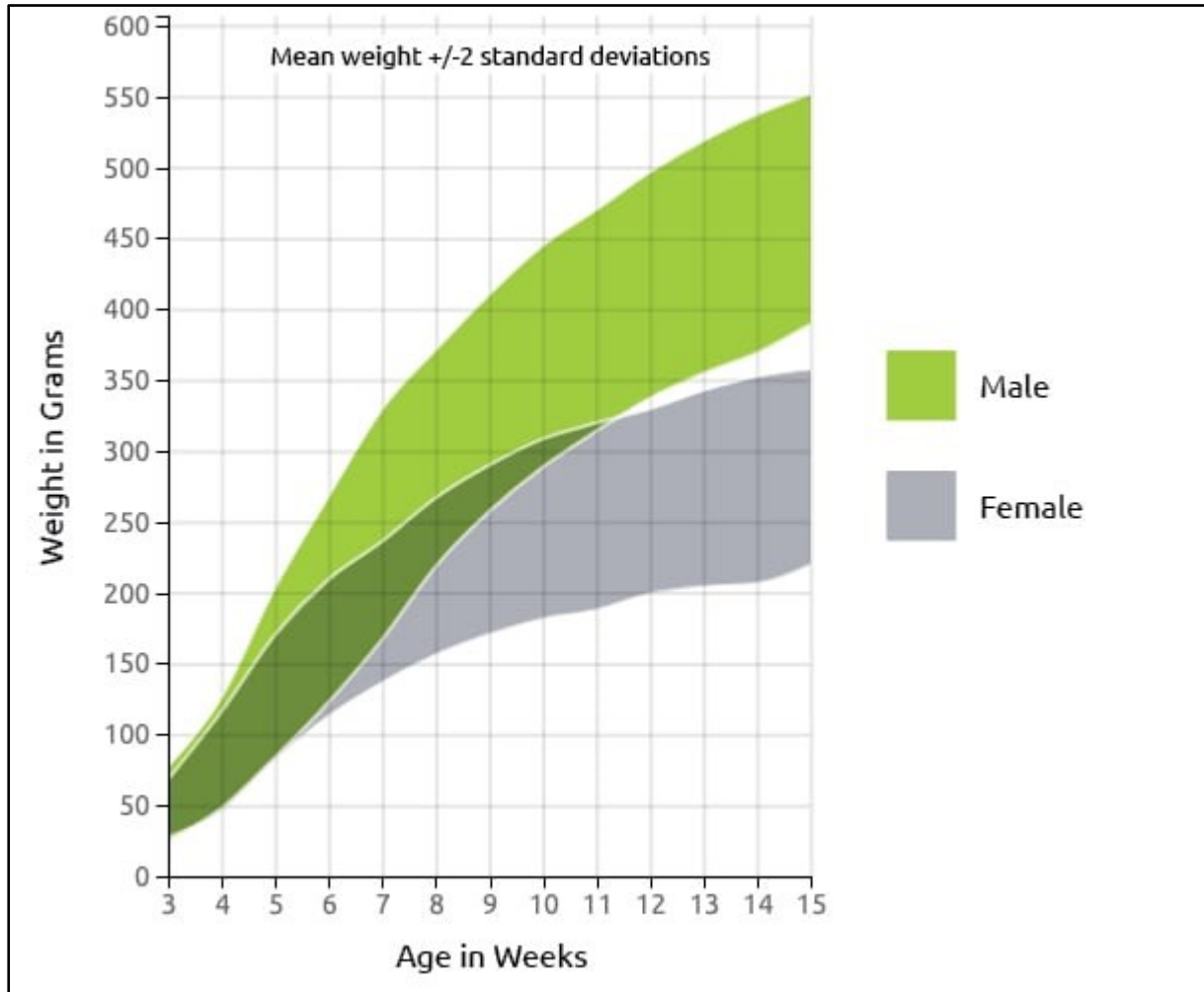
Waligóra, M., Tyrka, A., Miszański-Jamka, T., Urbańczyk-Zawadzka, M., Podolec, P., & Kopeć, G. (2018). Right atrium enlargement predicts clinically significant supraventricular arrhythmia in patients with pulmonary arterial hypertension. *Heart & Lung*, 47(3), 237-242. <https://doi.org/10.1016/j.hrtlng.2018.01.004>

Wanamaker, B., University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA, Cascino, T., University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA, McLaughlin, V., University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA, Oral, H., University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA, Latchamsetty, R., University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA, Siontis, K. C., & University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA. (2018). Atrial Arrhythmias in Pulmonary Hypertension : Pathogenesis, Prognosis and Management. *Arrhythmia & Electrophysiology Review*, 7(1), 43. <https://doi.org/10.15420/aer.2018.3.2>

Wang, A., Green, J. B., Halperin, J. L., & Piccini, J. P. (2019). Atrial Fibrillation and Diabetes Mellitus. *Journal of the American College of Cardiology*, 74(8), 1107-1115. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.07.020>

- Wang, J.-H., Zhao, L., Pan, X., Chen, N.-N., Chen, J., Gong, Q.-L., Su, F., Yan, J., Zhang, Y., & Zhang, S.-H. (2016). Hypoxia-stimulated cardiac fibroblast production of IL-6 promotes myocardial fibrosis via the TGF- β 1 signaling pathway. *Laboratory Investigation*, *96*(8), 839-852. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2016.65>
- Watanabe, I. (2018). Smoking and risk of atrial fibrillation. *Journal of Cardiology*, *71*(2), 111-112. <https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2017.08.001>
- Watanabe, M., Yokoshiki, H., Mitsuyama, H., Mizukami, K., Ono, T., & Tsutsui, H. (2012). Conduction and refractory disorders in the diabetic atrium. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, *303*(1), H86-H95. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00010.2012>
- Wei, X., Yohannan, S., & Richards, J. R. (2023). Physiology, Cardiac Repolarization Dispersion and Reserve. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537194/>
- Westerman, S., & Wenger, N. (2019). Gender Differences in Atrial Fibrillation : A Review of Epidemiology, Management, and Outcomes. *Current Cardiology Reviews*, *15*(2), 136-144. <https://doi.org/10.2174/1573403X15666181205110624>
- Wilde, A. A. M., & Amin, A. S. (2018). Clinical Spectrum of SCN5A Mutations. *JACC: Clinical Electrophysiology*, *4*(5), 569-579. <https://doi.org/10.1016/j.jacep.2018.03.006>
- Wu, C.-L., Yin, R., Wang, S.-N., & Ying, R. (2021). A Review of CXCL1 in Cardiac Fibrosis. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, *8*, 674498. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.674498>
- Wu, X., Ma, J., Ding, D., Ma, Y., Wei, Y., & Jing, Z. (2022). Experimental animal models of pulmonary hypertension : Development and challenges. *Animal Models and Experimental Medicine*, *5*(3), 207-216. <https://doi.org/10.1002/ame2.12220>
- Xintarakou, A., Tzeis, S., Psarras, S., Asvestas, D., & Vardas, P. (2020). Atrial fibrosis as a dominant factor for the development of atrial fibrillation : Facts and gaps. *EP Europace*, *22*(3), 342-351. <https://doi.org/10.1093/europace/euaa009>
- Zhang, J., Johnsen, S. P., Guo, Y., & Lip, G. Y. H. (2021). Epidemiology of Atrial Fibrillation. *Cardiac Electrophysiology Clinics*, *13*(1), 1-23. <https://doi.org/10.1016/j.ccep.2020.10.010>

Annexes



Annexe 1 – Charte de croissance des rats Wistar de Charles River®

Pulmonary Artery Banding (PAB) in rats

MATERIAL

Rodent anesthesia machine (Isoflurane and O ₂)	Respirator (Harvard Rodent Model 683)
Induction box for anesthesia	Adson forceps
Heating pad	Graefe straight pliers
Electric razor	Alm retractor
Buprenorphine	Castroviejo needle holder
Glass bead sterilizer	Olsen-Hegar needle holder
Syringes and needles	Silk 5.0 suture with needle
Transpore® Tape (adhesive tape)	Silk 4.0 suture with needle
Chlorhexidine 2%	Iris scissors
Compresses 4X4 and 2X2	Round tip scissors
Q-tips	Clips
Duratears	Clip Applicator

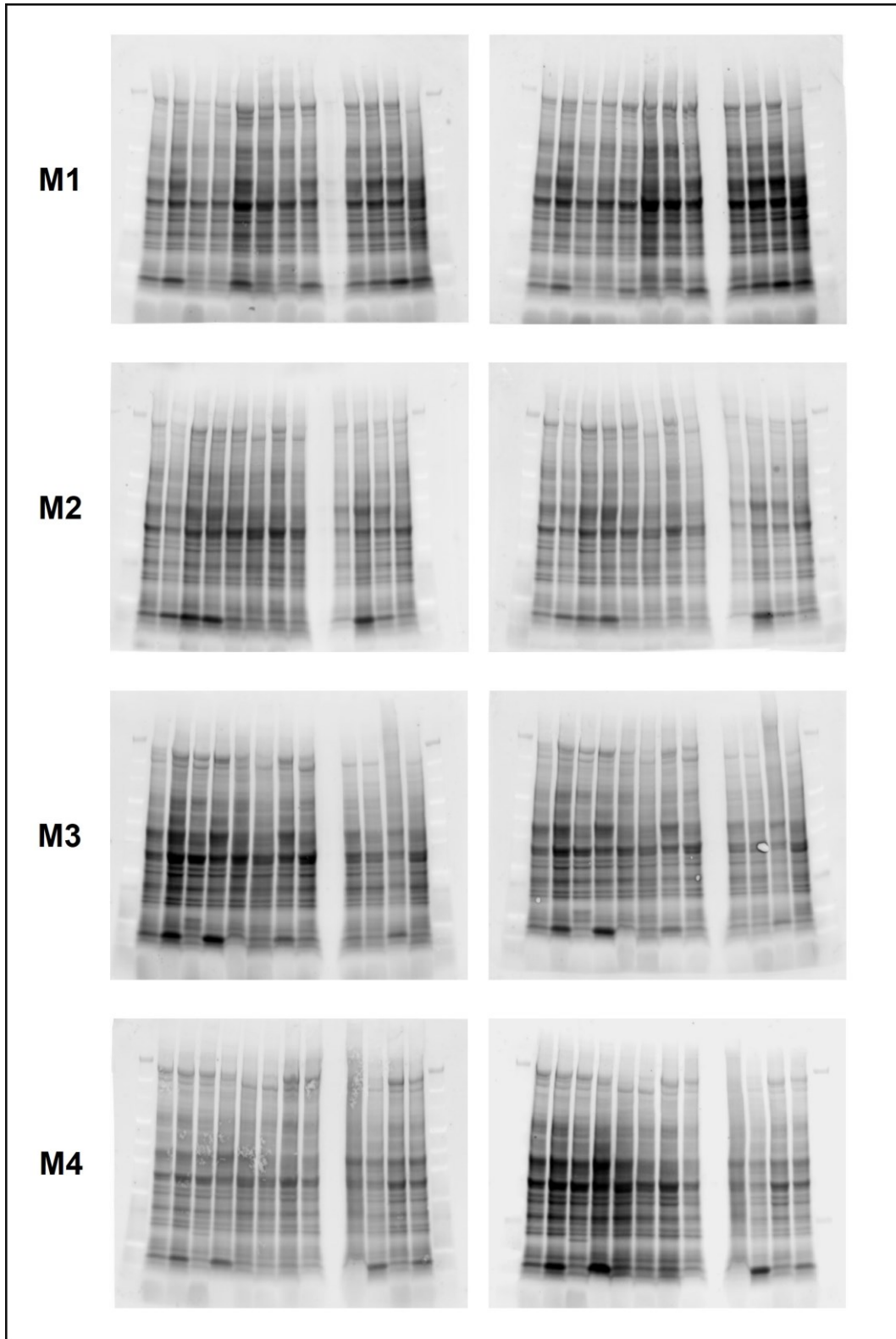
DOCUMENTS

Animal tracking-sheet
Controlled drug registry

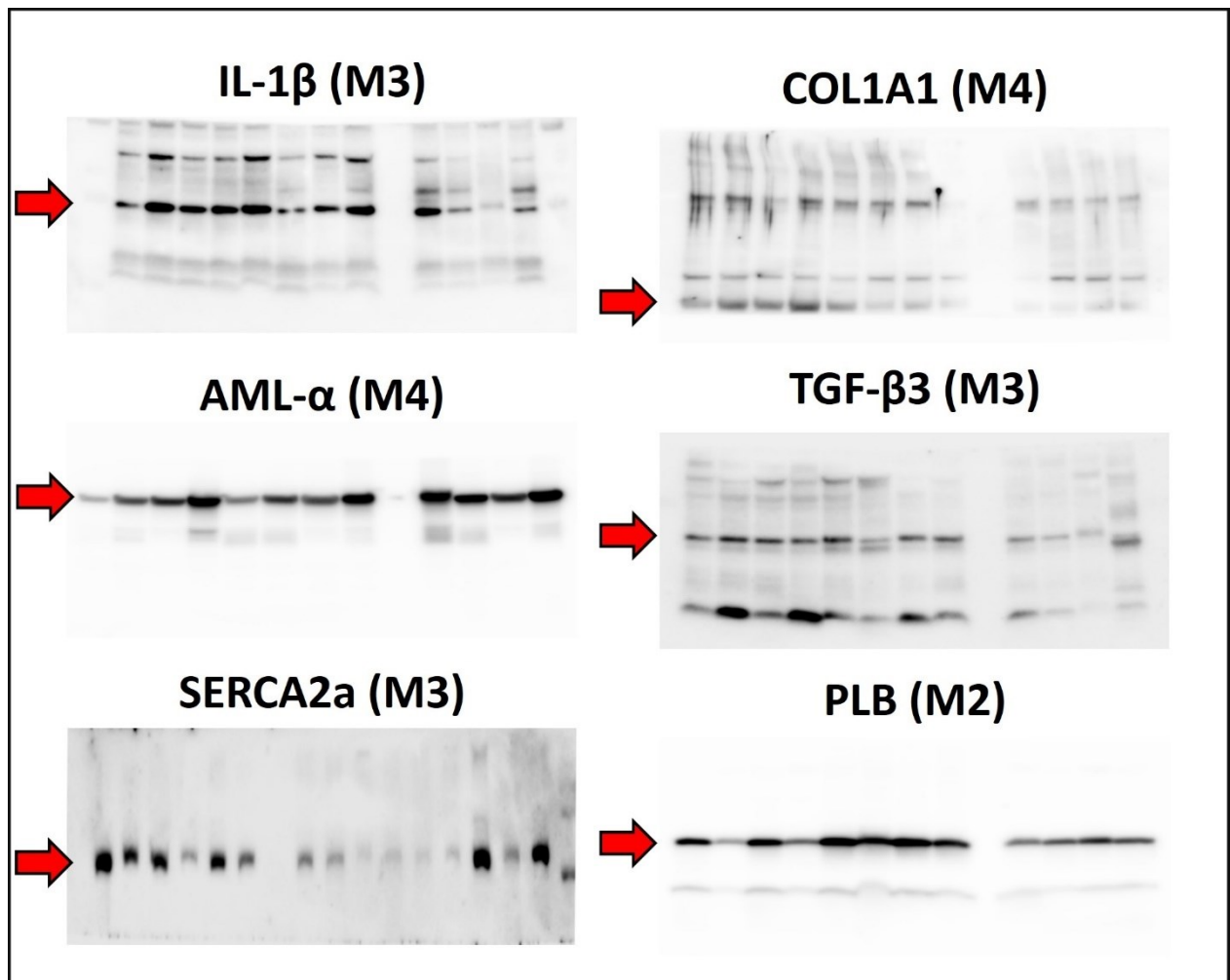
PROCEDURE

1. Anesthetize the animal. Put to sleep, in the induction box with 3% isoflurane and 1L / min of O₂, then reduce the isoflurane to 1.5 - 2% to maintain the mask.
2. Immerse the surgical instruments in the glass bead sterilizer for 10 seconds between each animal to ensure the cleanliness and sterility of the instruments. Allow instruments to cool before using them.
3. Shave and wash the breastbone on the left side.
4. Put chlorhexidine on the surgical site.
5. Apply the Duratears on the eyes, to avoid drying of the cornea.
6. Complete the follow-up form to ensure that each animal receives the pre-op required care.
7. Inject the pre-op analgesic intraperitoneously.
8. Intubate the animal, then connect the artificial respirator (80 breaths/minute).
9. Place the animal on a heating pad to prevent hypothermia. The temperature of the animal should be kept at 37°C.
10. Stabilize the legs on the worktop with Transpore® tape.
11. Make a 2 cm skin incision between between the last rib of thoracic cage to the underside of the arm.
12. Using the round-tipped chisel, loosen the pectoral muscle (opening the scissors to separate the muscles, not cutting the muscles) to expose the thoracic cage. With the iris scissors, make an incision in the intercostal muscle between the 4th and 5th rib, and with the round-tipped scissors enlarge the incision by opening the scissors (not by cutting).
13. Expose the left flank of the rat.
14. Position the retractor between the ribs and open.
15. With the forceps, grasp the pericardium and cut it with the iris scissors.
16. Identify the pulmonary trunk (near the aorta)
17. Use 5.0 floss and a 18G needle to ligate the pulmonary trunk.
17. Close the opening between the ribs with silk thread 4.0 and remove as much air as possible out of the thoracic cage.
18. Close the skin incision with clips.
19. Stop the anesthesia while the animal in on the artificial respirator. When the animal recovers its reflex and breathe, return it to its cage.
20. Give another dose of Buprenorphine after surgery, 6h and 24h post-surgery.
21. Ensure that the animal is fully awake before returning it to the living room.

1/1



Annexe 3 - Membranes de protéines totales pour immunobuvardage



Annexe 4 - Membranes pour les différentes protéines quantifiées

Annexe 5 - Inflammation et fibrose : Revue littéraire

L'inflammation générée par une augmentation de la pression au sein d'une oreillette se retrouve souvent au centre du développement et du maintien de la FA (Pinsky, 2016). Également, la FA elle-même génère une inflammation en endommageant le tissu atrial par des contractions désordonnées et peu contrôlées (Ihara & Sasano, 2022). C'est d'ailleurs surtout par une production de tissu fibrotique que des substrats arythmogènes peuvent résulter de l'inflammation.

Au niveau de l'OD, et dans le cœur droit, les processus inflammatoires impliqués sont moins bien décrits. La majorité des travaux scientifiques qui supportent les connaissances actuelles concernant l'inflammation et la fibrose dans le contexte de la FA ont été obtenues à partir de l'OG.

L'article suivant est une revue de littérature se concentrant sur la résolution de l'inflammation et de l'expansion du tissu fibrotique en contexte de pathologies cardiaques droites et de fibrillation auriculaire. Compte tenu de sa pertinence par rapport au sujet de recherche, l'inclusion de cet article dans le mémoire a pour but de présenter en détails les principaux aspects du concept d'inflammation arythmogène auriculaire, tout en exposant l'importance de sa compréhension dans l'élaboration de futures approches thérapeutiques.

Accord des coauteurs

1. Identification de l'étudiant et du programme

Charles-Alexandre LeBlanc

Maîtrise en Sciences biomédicales option sciences cardiovasculaires

(2-484-1-0)

2. Description de l'article

Ordre des auteurs : Rim Younes, Charles-Alexandre LeBlanc et Roddy Hiram

Titre de l'article: Evidence of Failed Resolution Mechanisms in Arrhythmogenic Inflammation, Fibrosis and Right Heart Disease

État actuel de l'article : Publié dans le journal Biomolecules (MDPI)

Evidence of Failed Resolution Mechanisms in Arrhythmogenic Inflammation, Fibrosis and Right Heart Disease

by Rim Younes ^{1,2,†}, Charles-Alexandre LeBlanc ^{1,2,†} and Roddy Hiram ^{1,2,*}

¹ Montreal Heart Institute (MHI), Montreal, QC H1T 1C8, Canada

² Department of Medicine, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, QC H3T 1J4, Canada

* Author to whom correspondence should be addressed.

† These authors contributed equally to this work.

Biomolecules **2022**, *12*(5), 720; <https://doi.org/10.3390/biom12050720>

Received: 29 April 2022 / Revised: 16 May 2022 / Accepted: 17 May 2022 / Published: 19 May 2022

(This article belongs to the Special Issue **Recent Advances in Cellular and Molecular Mechanisms of Cardiovascular and Metabolic Diseases**)

Abstract

Inflammation is a complex program of active processes characterized by the well-orchestrated succession of an initiation and a resolution phase aiming to promote homeostasis. When the resolution of inflammation fails, the tissue undergoes an unresolved inflammatory status which, if it remains uncontrolled, can lead to chronic inflammatory disorders due to aggravation of structural damages, development of a fibrous area, and loss of function. Various human conditions show a typical unresolved inflammatory profile. Inflammatory diseases include cancer, neurodegenerative disease, asthma, right heart disease, atherosclerosis, myocardial infarction, or atrial fibrillation. New evidence has started to emerge on the role, including pro-resolution involvement of chemical mediators in the acute phase of inflammation. Although flourishing knowledge is available about the role of specialized pro-resolving mediators in neurodegenerative diseases, atherosclerosis, obesity, or hepatic fibrosis, little is known about their efficacy to combat inflammation-associated arrhythmogenic cardiac disorders. It has been shown that resolvins, including RvD1, RvE1, or Mar1, are bioactive mediators of resolution. Resolvins can stop neutrophil activation and infiltration, stimulate monocytes polarization into anti-inflammatory-M2-macrophages, and activate macrophage phagocytosis of inflammation-debris and neutrophils to promote efferocytosis and clearance. This review aims to discuss the paradigm of failed-resolution mechanisms (FRM) potentially promoting arrhythmogenicity in right heart disease-induced inflammatory status.

Keywords: inflammation; fibrosis; resolution; right heart disease; atrial fibrillation

1. Introduction

Cardiac diseases, including atrial fibrillation (AF), the most common form of arrhythmia, are characterized by an unresolved inflammatory status [1,2,3]. In response to cardiac injury, apoptotic cardiomyocytes (CM) contribute to activating the inflammatory status regulated by pro-inflammatory signals released by cardiac cells and recruited inflammatory cells [4]. These events characterize the acute phase of inflammation, aiming to promote wound cleaning and to start the healing process [5]. Resolution-promoting signals are then secreted to stop acute inflammation via the initiation of the resolution phase, allowing the maintenance of homeostasis [6]. Cardiac fibroblasts (FB) are sensitive to circulating and CM-originated inflammatory signals [7]. When resolution is successfully activated, pro-resolution processes promote FB-secreted collagenous material to consolidate the extracellular matrix, compensate for the loss of apoptotic CM, and preserve the mechanical stability of the myocardium to protect the heart from rupture and failure [5,8]. In contrast, myocardial remodeling could become dangerous when the acute inflammatory period is prolonged and when the resolution response fails to occur [5,9]. This can lead to a switch into a persistent inflammatory status instead of resolving the inflammation [5,10].

Chronic inflammatory signals promote fibrotic tissue deposition, constituting a “stiff” layer on the myocardium [11]. Such fibrous zones are non-contractile and electrical insulator areas that disrupt the normal propagation of action potential can cause conduction slowing, refractoriness and AF [12,13] (**Figure 1**). Pro-resolution therapeutic strategies are poorly described in the field of anti-arrhythmic drug-development and arrhythmia-management.

Among cardiac disorders with an important inflammatory impact, right heart disease (RHD) is a pathological condition in which the right ventricle (RV) suffers from a structural and electrical remodeling that strongly affects cardiac physiological functions [14]. Right heart structure, heart chambers, and the circulatory system are vulnerable to morphological modifications that may result from hypertension-promoting cardiac conditions, including pulmonary artery hypertension (PAH), chronic obstructive pulmonary disease (COPD) or pulmonary embolism [15]. Volume- and pressure-overload conditions associated with structural remodeling negatively impacts the cardiac function, particularly because of the induced inflammatory

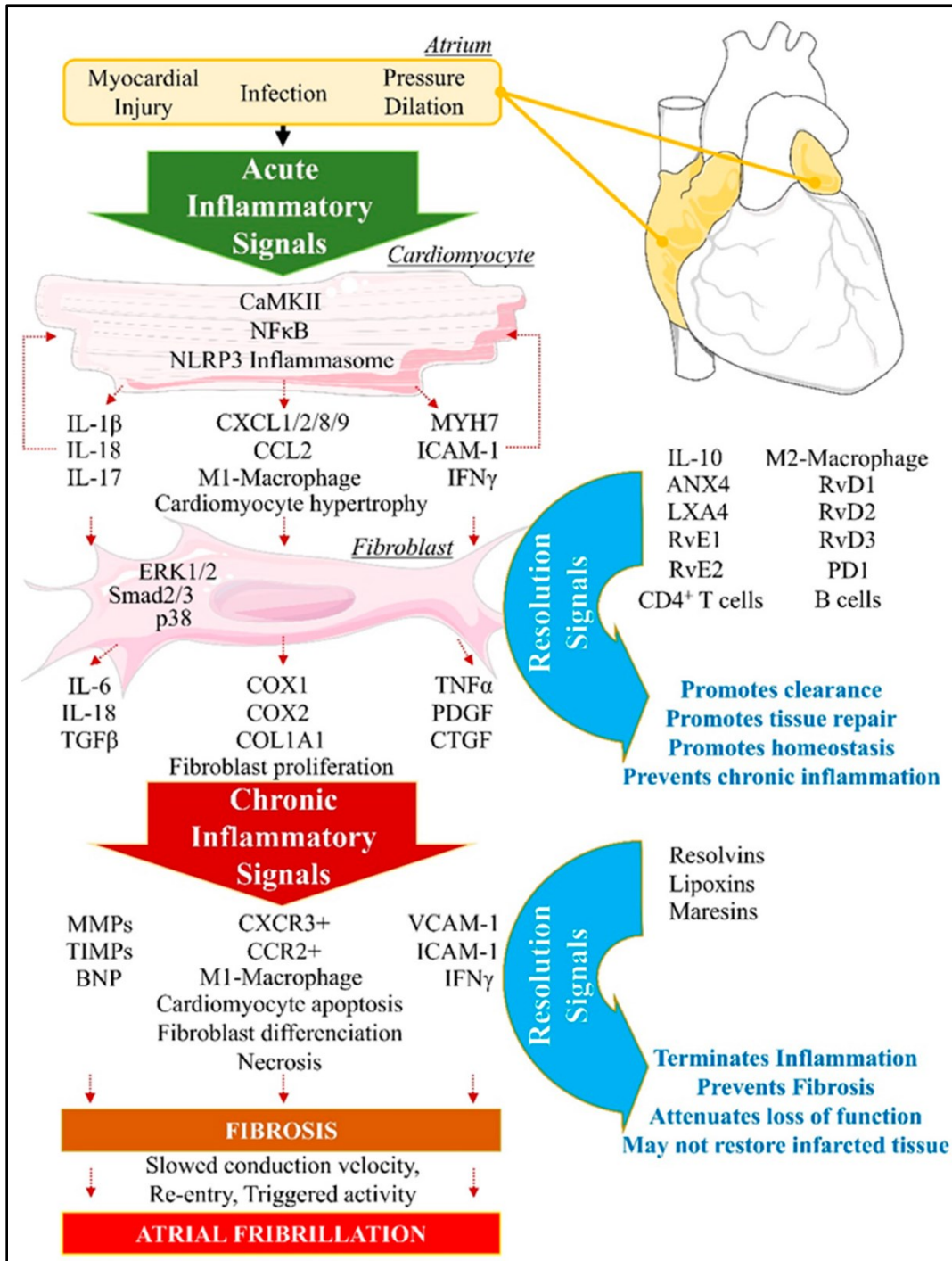


Figure 1 (Article) Biomolecular orchestration of cellular events from cardiac insult to resolution opposed to persistent arrhythmogenic inflammation

Note. Biomolecular orchestration of cellular events from cardiac insult to resolution opposed to persistent arrhythmogenic inflammation. Longstanding exposure of the atrium to

myocardial injuries, infections or chronic pressure and dilation provokes the normal initiation of acute inflammation. In cardiomyocytes (CM), intracellular inflammatory response involves CamKII, NF- κ B or NLRP3 inflammasome pathways activation, which contribute to CM deregulation of structural genes (Myh7), and secretion of proinflammatory cytokines including interleukins (IL-1 β , IL-18) and chemokines (CXCL, CCL), leading to promotion of proinflammatory (M1)-macrophage infiltration. Proinflammatory signals contribute to the activation of cardiac fibroblasts (FB). FB activate additional pro-inflammatory signals (TGF- β , TNF α , PDGF) provoking FB differentiation into myo-FB, aiming to promote repair and wound healing, if the resolution signals are properly activated in response to inflammation initiation. Resolution mediators, including IL-10, LXA4, D- and E-series resolvins, contribute to terminate M1-macrophages infiltration, facilitate anti-inflammatory (M2)-macrophages polarization and phagocytosis, while activating CD4+ T cells and B cells efferocytosis, leading to homeostasis. When Resolution fails to occur, inflammation is perpetuated via FB and myoFB secretion of chronic-inflammation-promoting mediators (MMPs, IFN γ , CXCR3+, M1-macrophages) leading to CM necrosis, and loss of function. Resolution signals can be promoted to limit chronic inflammation-induced damages. If failed resolution mechanisms persist, the myocardium is exposed to the development of fibrosis, slowed conduction velocity, triggered activity, re-entry and increased susceptibility to arrhythmias, including atrial fibrillation.

status, and can potentially result in myocardial fibrosis in response to a chronic rise in blood pressure, myocardial tissue stretching, or myocardial injury [16]. In the RV and the right atrium (RA), electrical remodeling is at the origin of potential tachycardia and arrhythmias, including ventricular fibrillation or/and atrial fibrillation (VF and AF) [17,18]. In response to structural remodeling, pro-inflammatory cytokines, and chemokines such as IL-1 β , IL6, IL18, TGF- β , or CXCL1/2 stimulate fibroblasts (FB) differentiation into myofibroblasts (myo-FB) associated with a gradual loss of function in the myocardium [19,20]. Events and conditions promoting the development of cardiac fibrosis in the atrial tissue are associated with arrhythmogenic structural and functional modifications, promoting AF [3,21,22] **(Figure 1)**.

The current article aims to review: (I) the general biochemical paradigm orchestrating the active mechanisms of resolution and the relevance of the concept of failed resolution mechanisms (FRM) in cardiac disorders; (II) the clinical and experimental investigations that tried to understand the role of cardiac FBs in the different phases following cardiac injury, including initiation of inflammation, resolution, chronic inflammatory phase, and arrhythmogenic cardiac remodeling including RHD; and (III) the importance of considering FRM in an understanding and therapeutic management of RHD associated with arrhythmogenic atrial remodeling. We finally discuss the relevance of novel molecular targets that could potentially help to switch chronic inflammation into resolution and homeostasis, in order to prevent cardiac arrhythmias and AF.

2. Biomolecular Paradigm of Active Resolution Mechanisms in the Heart

2.1. Initiation Phase of Inflammation: Central Regulatory Role of Arachidonic Acid

During the initiation of acute inflammation, phospholipase A2 (PLA2) levels are increased at the site of injury [23]. PLA2 produces arachidonic acid (AA: 5, 8, 11, 14-eicosatetraenoic acid) by hydrolyzation of the sn-2 ester bond of cellular phospholipids [23]. Patients with coronary artery disease show increased levels of lipoprotein-associated PLA2 (Lp-PLA2) [24]. Elevated levels of Lp-PLA2 have been suggested as an important risk factor of cardiovascular diseases [25]. Paradoxically, when Lp-PLA2 hydrolyzes the platelet-activating factor (PAF), its enzymatic activity is associated with anti-inflammatory properties [26]. The underlying mechanisms governing this paradox will be discussed below.

2.1.1. Arachidonic Acid Metabolism by Cytochrome P450

AA is an essential polyunsaturated fatty acid (omega-6 PUFA) that can interact with cytochrome P450 (CYP450) enzymes to undergo monooxygenation or epoxidation and produce hydroxyeicosatetraenoic acids (19- and 20-HETEs) and dihydroxyeicosatrienoic acid (diHETrEs) [27] (Figure 2). These molecules act as hormone-like autocrine and paracrine agents to promote vasoconstriction, vascular permeability, polymorphonuclear leukocytes (PMN), and proinflammatory (M1)-macrophages chemotaxis, and proinflammatory signaling [28].

2.1.2. Arachidonic Acid Metabolism by COX1 and COX2

AA can directly interact with COX1 and COX2 to produce prostaglandin H₂ (PGH₂), an intermediate metabolite that is converted into bioactive proinflammatory lipid mediators such as thromboxane A₂ (TXA₂), prostaglandin A₂ (PGA₂), PGB₂, PGE₂, and PGI₂ (**Figure 2**). These AA metabolites have been shown to be elevated in various cardiovascular conditions, including hypertension, atherosclerosis, vasculopathy, and myocardial infarction [29]. AA-derived lipids mediate vasoconstriction, increase vascular permeability, and stimulate expression of proinflammatory chemokines (complement component (C): C3b, C5a; chemokine C-X-C motif ligand 1 (CXCL1), CXCL2, CXCL8) and interleukins (IL1 β , IL6, IL8, IL18, tumor necrosis factor alpha (TNF α)) to promote polymorphonuclear leukocytes (PMN) and proinflammatory-(M1)-

macrophages chemotaxis and adhesion, by increasing expression of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM1), vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM1), and e-selectin (SELE), which act on endothelial cells to promote the adherence of neutrophils to the blood vessel wall [29,30]. These inflammatory biomarkers have been described to promote the development and progression of cardiovascular diseases including cardiac arrhythmias and AF [11,12,22].

2.1.3. Arachid Acid Metabolism by 5-LOX

AA can also interact with 5-LOX to produce 5-Hydroperoxyeicosatetraenoic acid (5-HpETE), which promotes vasoconstriction. 5-HpETE can be metabolized either by leukotriene (LT) C-synthase to produce LTC₄, LTD₄, and LTE₄, or by LTA-hydrolase to produce LTB₄ via LTA₄, which are all leukotrienes playing proinflammatory properties by amplifying PMN and M1 macrophages influx in the injured tissue [31] (Figure 2). HETEs have been shown to activate the nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NFκB) signaling to promote abnormal CM hypertrophy [32].

Evidence shows that AA-derived metabolites' receptors are expressed on most cardiac cells including CM and FB [33]. In CM, inflammation signaling promotes NFκB activity and the assembling of the NACHT, LRR, and PYD domains containing protein 3 (NLRP3) inflammasome, leading to secretion of IL-1β and increased inflammatory status [34]. Patients with AF have shown increased expression of IL-1β and NLRP3 inflammasome components [35]. Normal initiation of inflammation must be followed by bio-molecularly orchestrated cellular processes

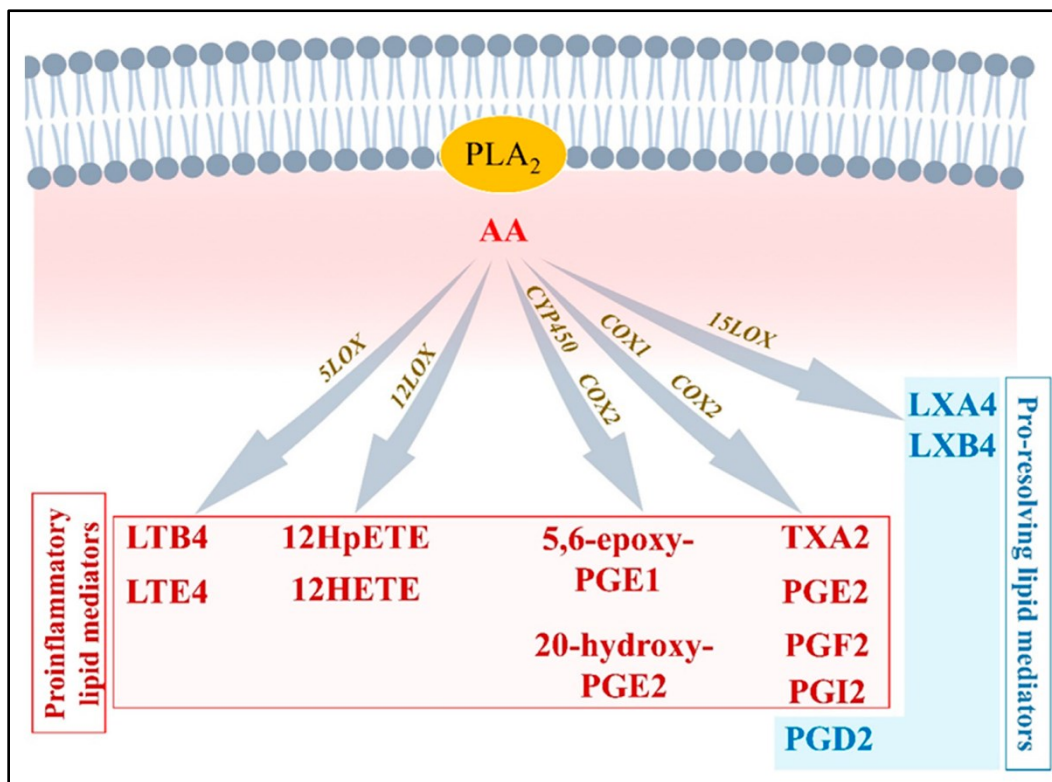


Figure 2 (Article) Arachidonic acid-derived lipid mediators

Note. Arachidonic acid (AA) interaction with COX1, COX2, 5LOX, 12LOX, or CYP450 enzymes mainly leads to the production of proinflammatory lipid mediators including leukotrienes, thromboxanes, and prostaglandins. AA interaction with COX1/2 or 15LOX can generate pro-resolution mediators including PDG2, LXA4, and LXB4.

aiming to terminate the inflammatory state and promote resolution [36]. In this purpose, lipid-mediator (LM) class switching is a key event that could be defined as a transition phase between the end of inflammation-initiation and the beginning of resolution [37].

2.2 Lipid-Mediator Class Switching: Transition from Pro-Inflammatory to Pro-Resolution Signals

During the initiation phase of inflammation, neutrophils have an intense apoptotic and phagocytic activity [38]. This activates intracellular accumulation and extracellular secretion of 12/15-LOX in the damaged tissue. This accumulation of 12/15-LOX activates lipid-mediator-class switching from proinflammatory to pro-resolution mediators [39]. AA is then enzymatically metabolized by

12/15-LOX into lipoxins, including lipoxin (LX) A4 and LXB4 (**Figure 2**). LXA4 activates its transmembrane specific-receptor lipoxin A4 receptor or formyl peptide receptor 2 (ALX/FPR2) expressed on PMN and macrophages to limit further leukocyte trafficking, stimulate monocyte recruitment, promote anti-inflammatory (M2)-macrophage polarization, and activate phagocytosis and elimination of debris [39]. LXA4 has been shown to be significantly decreased in patients with chronic heart failure [40]. Recent studies have shown that LXA4 attenuates myocarditis by inhibiting NFκB and PI3K/Akt signaling pathways. 15-epi-LXA4 promotes initiation of resolution after myocardial infarction [41,42]. This activity of LXA4 suggests that, in arrhythmogenic conditions, anti-resolution signals promote the diminution of LXA4 production or/and LXA4-associated activity and signaling [42]. LXA4 could be an interesting candidate in the prevention of inflammation-induced substrate of arrhythmias, including AF.

2.3 Resolution of Inflammation: SPMs-Mediated Efferocytosis and Homeostasis

Along with AA, other essential n3PUFAs are delivered with edema fluids at the site of injury. Among them, eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) compete with AA to be enzymatically metabolized by either CYP450, 5LOX, 12LOX, 15LOX, or aspirin-acetylated COX2 [43]. Knowing that AA-derived metabolites are crucial in the initiation of normal inflammation, and that EPA and DHA products are important in resolution, it is understandable that optimal healthy conditions must promote a fair balance between AA, EPA, and DHA concentrations. Hence, in opposition to what has long been thought, it is not recommended to completely annihilate AA-derived metabolites (i.e., by using COX inhibitors) to guaranty homeostasis [44] (**Figure 2 and Figure 3**).

2.3.1. EPA-Derived Specialized Pro-Resolving Mediators

EPA is metabolized by CYP450 or aspirin-[ASA]-acetylated COX-2 into 18-HpEPE (18R-hydroperoxy-5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 16E-eicosapentaenoic acid), which itself can interact with either 5LOX to produce E-series resolvins (Rvs), RvE1 and RvE2 or 15LOX to produce RvE3. E-series Rvs activate specific receptors such as chemokine-like receptor 1 (CMKLR1), also known as chemerin receptor 23 (ChemR23) (receptor of RvE1), or antagonize proinflammatory leukotriene receptors, such as leukotriene B4 receptor 1 (BLT1), expressed on PMN cell membrane, to stop the

expression of chemoattractants, limit neutrophils adhesion/infiltration, and promote phagocytosis of apoptotic neutrophils and efferocytosis [45] (**Figure 3**).

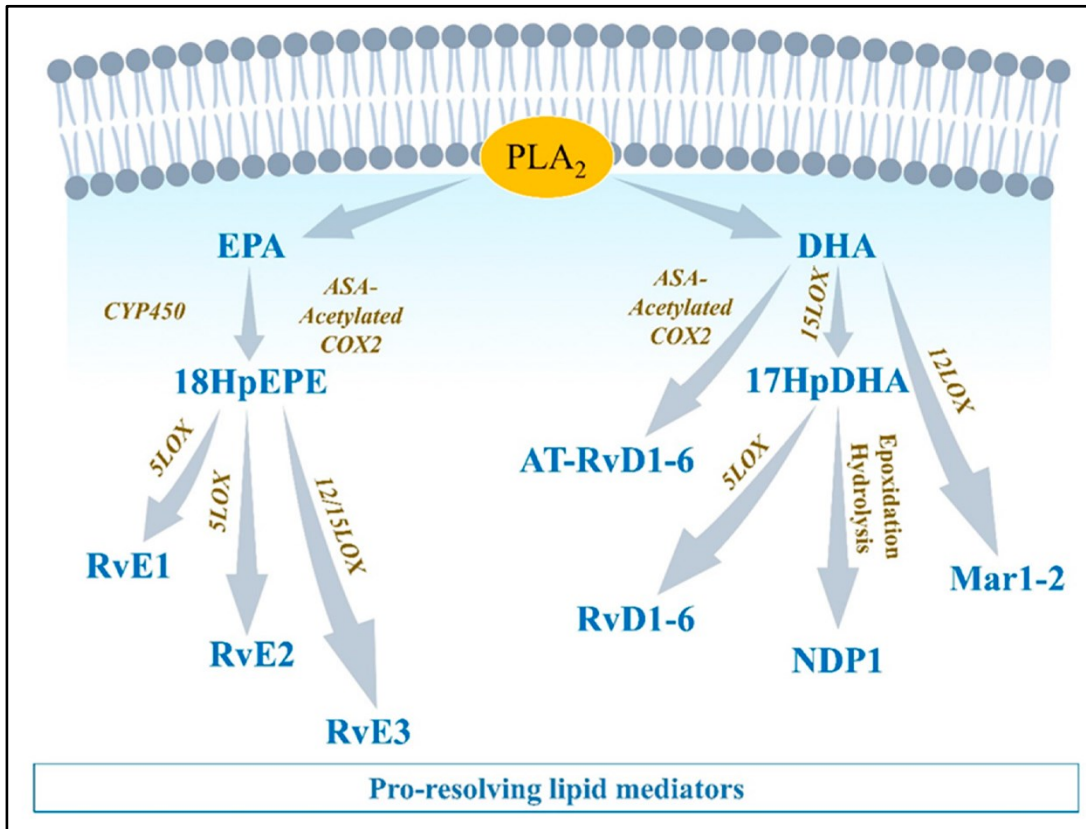


Figure 3 (Article) Eicosapentaenoic acid-, and docosahexaenoic acid-derived lipid mediators

Note. Eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) compete with AA in interacting with COX1/2, 5LOX, 12LOX, and 15LOX. Lipids produced from EPA and DHA metabolism include E-series resolvins (RvE1-3) and D-series resolvins (RvD1-6), respectively, which are involved in pro-resolution mechanisms.

2.3.2. DHA-Derived Specialized Pro-Resolving Mediators

DHA can be metabolized by 12LOX to produce maresins (MaR1-2), or 15LOX to produce D-series resolvins (RvD1-6) and neuroprotectin D1 (NPD1) [46]. DHA interaction with aspirin-acetylated COX2 results in aspirin-triggered resolvins (AT-RvD1-6), which have been described to have similar properties as their classic homologs of the D-series Rvs [47] (**Figure 3**). D-series resolvins activate

specific receptors such as ALX/FPR2 (receptor of RvD1), G-protein-coupled receptor 32 (GPR32: receptor of RvD1 and RvD3), and GPR18 (receptor of RvD2) that are expressed on vascular endothelial cells [37]. The activation of these signals promotes eNOS and P-ERK1/2 signaling, vascular permeability to non-phlogistic monocytes, cessation of PMN infiltration, macrophage polarization into M2-macrophages, M2-macrophages phagocytosis of cellular debris, and maintenance of homeostasis [37,45] (**Figure 4**).

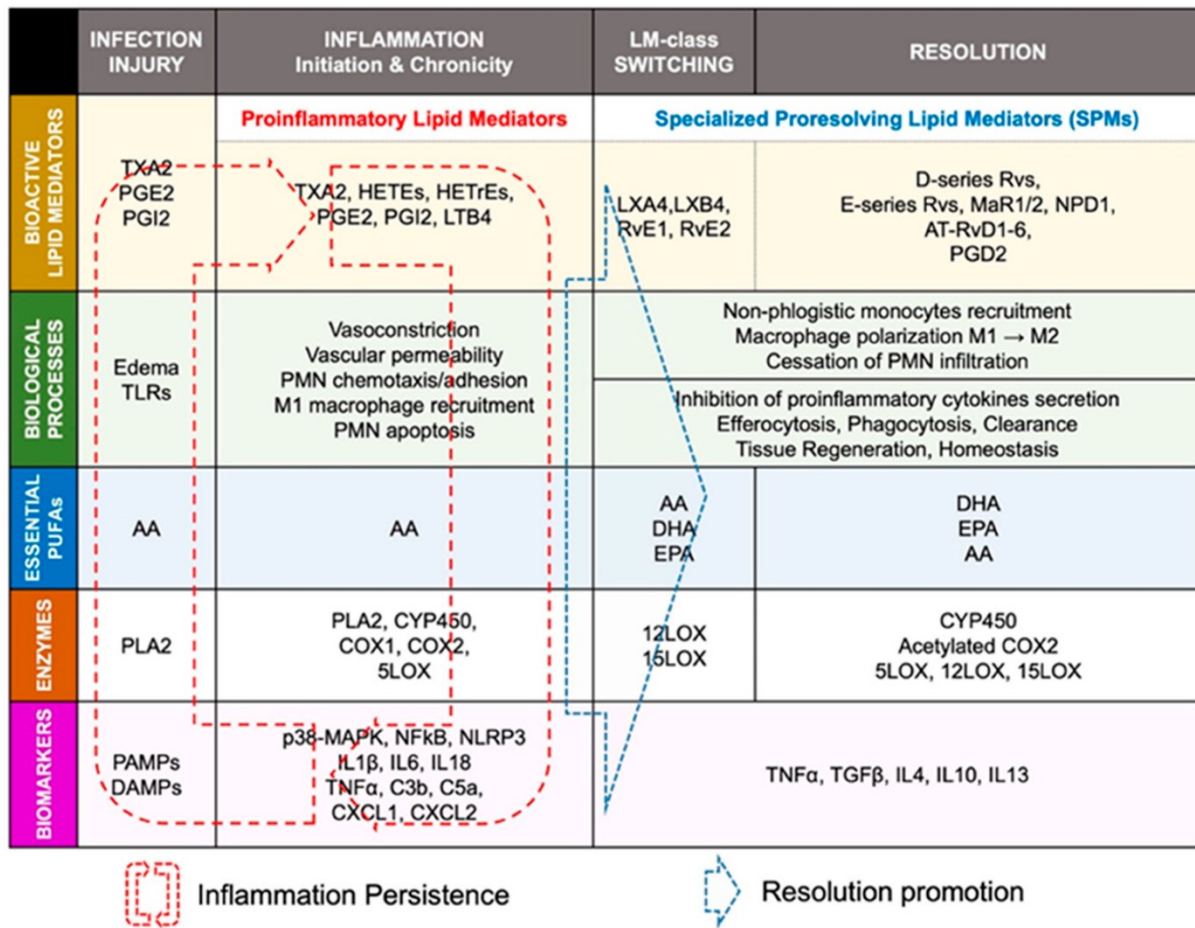


Figure 4 (Article) Categorization of inflammation- and resolution-promoting agents

Note. In response to pathogens or injury stimuli (PAMPs, DAMPs), phospholipase A2 (PLA2)-induced biosynthesis of arachidonic acid (AA) leads to the production of proinflammatory lipid mediators including thromboxanes, leukotrienes, and prostaglandins. Such events mark the initiation phase of acute inflammation characterized by PMN chemotaxis, pro-inflammatory-[M1]-macrophages recruitment, and enhanced proinflammatory signals (NLRP3 inflammasome,

NF- κ B, IL-1 β , CXCL1/2). Phagocytic M1-macrophages release 12/15 LOX, which promotes the activation of lipid-mediators (LM) class switching, where AA, docosahexaenoic acid (DHA), and eicosapentaenoic acid (EPA) interact with 12LOX and 15LOX enzymes to be metabolized into specialized pro-resolving mediators (SPMs) including PGD₂ from AA, D-series resolvins from DHA, or E-series resolvins from EPA. SPMs promote anti-inflammatory (M2)-macrophage recruitment, inhibition of proinflammatory cytokines' secretion, termination of inflammation, and regeneration of optimal functions. When the resolution mechanisms fail to occur, inflammation is perpetuated. Inflammatory mediators are overexpressed, leading to persistence of cellular damages, necrosis, fibrosis, loss of function and cardiac vulnerability to arrhythmias, and heart failure. Strategies promoting the augmentation of pro-resolution mechanisms can potentially limit, or eventually reverse, some chronic-inflammation-induced cardiac disorders.

2.3.3. Arachidonic Acid-Derived Specialized Pro-Resolving Mediators

The metabolism of AA by COX does not only generate proinflammatory components. PGD₂ has been shown to play an important role in resolution of inflammation [48]. PGD₂ interacts with prostaglandin-D₂-receptor 1 and 2 (DP_{1/2}) expressed on T helper type (Th₂) cells and dendritic cells that are involved in efferocytosis, phagocytosis, and clearance, to promote elimination of debris and pathogens, and induce complete resolution [48]. The interaction of AA with CYP450 can lead to production of epoxyeicosatrienoic acids (EETs) that are converted by soluble epoxide hydrolase (sEH) into dihydroxyeicosatrienoic acids (DiHETrEs). Although DiHETrEs are toxic, it has been shown that EETs mostly play a beneficial role by promoting vasorelaxation, and cardioprotective effects [49] (**Figure 2 and Figure 4**).

2.4. 'Failed Resolution Mechanisms' in the Development of Chronic Inflammation and Heart Diseases

Lipid mediator (LM) production and signaling are fundamental in the regulation of the normal process of acute inflammation from its initiation to its resolution [46]. When the cardiac tissue undergoes a chronic inflammatory status, the crucial phase of LM class switching, which promotes the end of PMN infiltration and the activation of efferocytosis, may have failed to promote the

shift of the cellular and lipidic accumulation from proinflammatory to pro-resolution mediators in the injured tissue [39]. Pathologic failure in the production of 12/15 LOX by immune cells including eosinophils, PMN, lymphocytes, and macrophages, leads to a lack of metabolization of AA into lipoxins (LXA4, LXB4) [38]. Lipoxins are essential to activate the cessation of neutrophil recruitment and the infiltration of non-phlogistic monocytes in the site of injury, which is the first step of resolution [38,39]. Moreover, lack of 12/15LOX prevents the production of D-series Rvs from DHA and RvE3 from EPA [38,50] (**Figure 3**). This may contribute to an annihilate resolution. Then, more proinflammatory LMs (Prostaglandins, leukotrienes) are produced from AA enzymatic interactions with the other enzymes available (COX2, CYP450, 5LOX) [50]. Abnormal accumulation of proinflammatory signaling promotes the prolongation of the initiation phase, characterized by the persistence of the external, cellular, and molecular signs of inflammation. This chronic inflammatory status leads to the development of fibrosis and loss of function [40,50]. If the local production of 12/15LOX is restored, or if the bioavailability of resolvins and lipoxins is increased (from diet or endogenous biosynthesis) at the site of injury, the tissue may enter the resolution phase via termination of proinflammatory signals, reduction of fibrosis, wound healing, and restoration of homeostasis [39,51,52] (**Figure 1 and Figure 4**).

The detailed biomolecular characterization of inflammation–resolution remains partially understood in cardiac conditions. Moreover, each cardiac disease may display specific biomarkers involved in the incidence of the disorder. Although recent studies suggest a role of SPMs in ischemia-reperfusion [42,53] and pulmonary arterial hypertension-induced right atrial arrhythmogenic substrate [54], further fundamental research and clinical studies are required to assess whether resolution-promoting strategies and cytokine therapies could be an efficient approach to prevent and treat cardiac diseases, including hypertrophic cardiomyopathy, dilated cardiomyopathy, valvopathy, myocardial infarction, or arrhythmias.

3. Description of ‘Failed Resolution Mechanisms’ in Cardiac Arrhythmogenic Remodeling

In cardiac arrhythmias, the available knowledge about the pathophysiology of ventricular or atrial fibrillation and their risk factors suggests that not only inflammation signals, but also specific breakdown in the active resolution machinery that we define as “failed resolution mechanisms” (FRM), may play a key role in the occurrence and development of the arrhythmogenic substrate [20,22,55].

Various systemic conditions reported to affect the heart are responsible for the circulating inflammatory agents involved in the development, aggravation, and persistence of cardiac diseases including arrhythmias [22]. Among the disorders that have a clinically relevant impact on the incidence of cardiac inflammation and arrhythmias, are the following: obesity, diabetes, obstructive lung diseases, gastrointestinal disorders, chronic kidney disease, liver cirrhosis, or neurodegenerative diseases [15,56,57,58,59,60].

Although inflammatory cytokines seem involved in arrhythmogenic cardiac disorders, pharmacological strategies targeting inflammatory and resolution systems are not currently standardized as antiarrhythmic medications [56]. Mounting evidence suggests that such therapeutic strategies may represent a promising avenue to explore in the clinical management of cardiac arrhythmias [13,61].

3.1. FRM Associated with Cardiac Electrical Conduction Abnormalities

Inflammatory cytokines have been reported to directly affect cardiac remodeling by promoting electrical changes early after the initiation of inflammation [22,61]. If unresolved, inflammatory cytokines’ release promotes an alteration of the CM transmembrane activity of inward depolarizing cation currents (including sodium I_{Na} , and calcium current I_{CaL}) [61,62]; and the perturbation of outward depolarizing potassium currents, including I_{K1} , I_{to} , I_{Kr} , I_{Ks} , I_{KACH} , I_{KATP} , and I_{Kur} [61,63]. Dysfunction of these ion channels is associated with abnormal action potential duration (APD), leading to myocardial refractoriness, promoting arrhythmogenicity [64]. In addition to electrical remodeling, inflammation signals promote gap-junctions’ downregulation,

leading to lateralization and decreased expression of connexin (Cx) 40 and Cx43 [65]. These inflammation-induced channelopathies contribute to a slowed conduction velocity, promoting re-entry [53,54,55,60,61,62,63,64,65]. FRM-mediated chronic inflammation and CM remodeling promote abnormal intracellular Ca²⁺-handling due to a pathological increase in Ca²⁺-loading, RyR2-opening, and/or dysfunctional sarco-endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase (SERCA) activity, contributing to ectopy and triggered activity [66,67,68]. It is suspected that the prevention of FRM and the control of inflammation and fibrosis may have cardioprotective effects in order to preserve normal myocardial conduction properties and limit arrhythmia occurrence [54,68] (Figure 5).

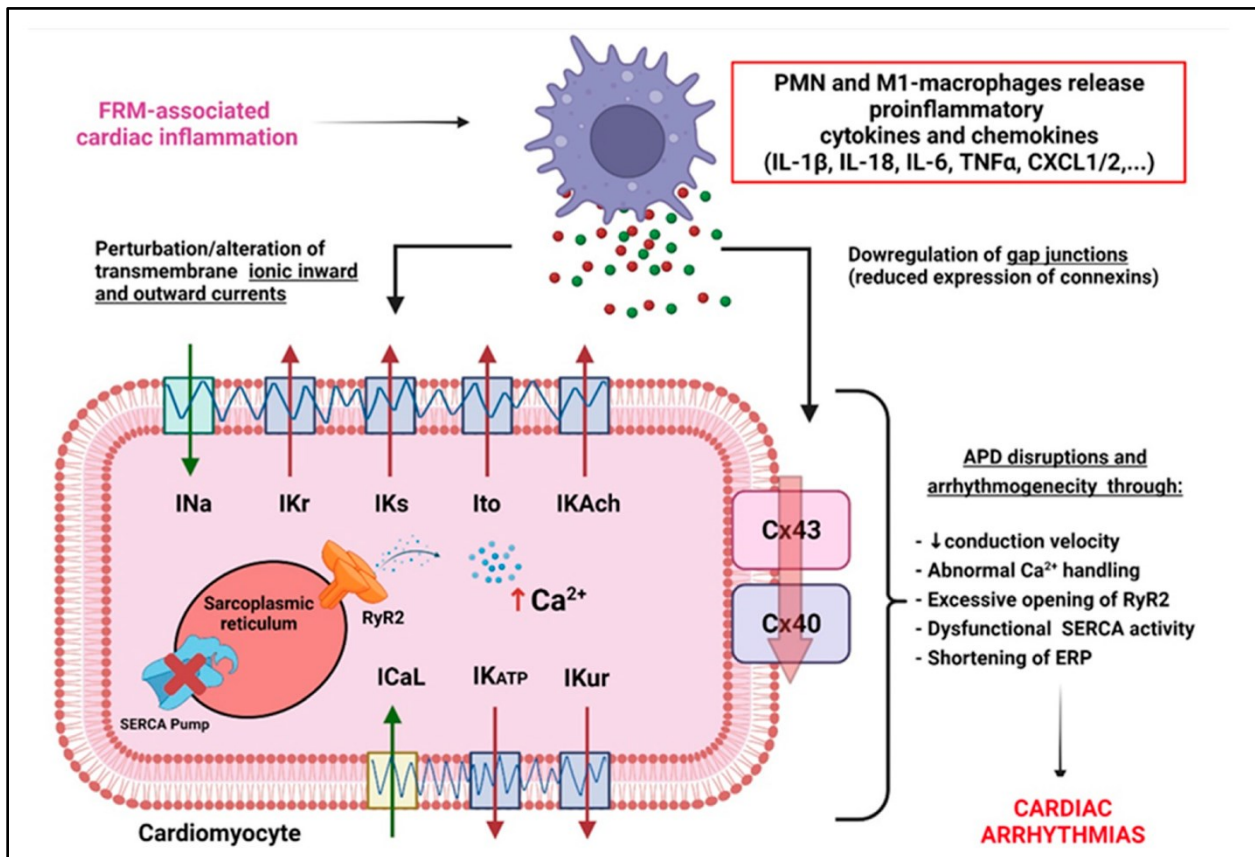


Figure 5 (Article) FRM-induced arrhythmogenic channelopathy in cardiac myocytes

Note. In the myocardium, failed resolution mechanisms are associated with increased infiltration of polymorphonuclear leukocytes (PMN), enhanced M1-macrophages phagocytic activity and augmentation of the secretion of proinflammatory cytokines. Persistence of

proinflammatory signals provokes deregulation of gene coding for key ion-channels and connexins involved in the establishment of cardiac action potential (AP) and conduction velocity. Inflammation-associated channelopathy induces: abnormal calcium-(Ca²⁺)-handling, effective refractory period (ERP) shortening, reduced AP duration (APD), slowed conduction, vulnerability to re-entry, and triggered activity leading to increased risk of cardiac arrhythmias and fibrillation.

3.2. FRM Associated with Cardiac ECM's Arrhythmogenic Structural Remodeling

The extracellular matrix (ECM) is a complex network consisting of glycoproteins, proteoglycans, and glycoaminoglycans including fibers, collagen, fibronectin, laminin, and elastin, surrounding cardiac cells to provide structural support and strength [69]. FB perform important secretory activity to maintain the integrity and regulation of the ECM [70]. After the initiation of inflammation, resident FB are activated and recruited to the site of injury to initiate reparative processes [69,70]. Inhibitors of metalloproteinases are activated in order to limit acute inflammation and protect newly synthesized ECM from degradation [71]. When resolution and termination of inflammation fail, FRM are promoted by persistent inflammatory signaling, triggering FB differentiation into myo-FB by acquiring various phenotypic changes, including a higher cytoplasmic volume, increased microfilament bundles, and upregulated α SMA filament expression [72]. Myo-FB can secrete further ECM components, contributing to a build-up of the myocardium structure and compensating disease-induced CM necrosis. In this context, myo-FB are also able to provide contractile force, stiffening of the ECM and expansion of the fibrotic area [73]. At the later stage of cardiac remodeling, secreted collagen is subjected to cross linking to consolidate the scar [74]. When healing processes fail to promote neither regeneration of the tissue nor repairment, chronicity of inflammation and FRM lead to chronic wound formation characterized by upregulation in the expression of lysyl-oxidase and pro-fibrotic signaling responsible for the maturation of the scars associated with outrageous degradation of the ECM [75,76] (**Figure 6**).

Chronic inflammation-induced loss of myocardial thickness is associated with cardiac loss of function and aggravation of cardiac disease [77]. FRM-associated degradation of ECM and CM-death is a major challenge in cardiac disease management [78]. It is unclear whether specialized

pro-resolving mediators (SPM) could regenerate wounded myocardium. Further studies investigating the impact of resolvins after irreversible scar formation in ischemic cardiac disorders are required to assess their potential regenerative effects and efficiency.

3.3. FRM Associated with Abnormal Cardiac Fibroblasts' Remodeling and Atrial Fibrosis
 Cardiac FB are sensitive to cardiac immune response to injury via close interactions with activated inflammatory cells and the tightly regulated healing process initiated to limit tissue damage [74]. FB are involved in the activation of reparative processes that are essential to preserve the proper structure and function of the heart [71,74]. Longstanding and uncontrolled inflammation can lead to FRM, cardiac remodeling, congestive heart failure, cardiac dysfunction, arrhythmia, and sudden death [54,77].

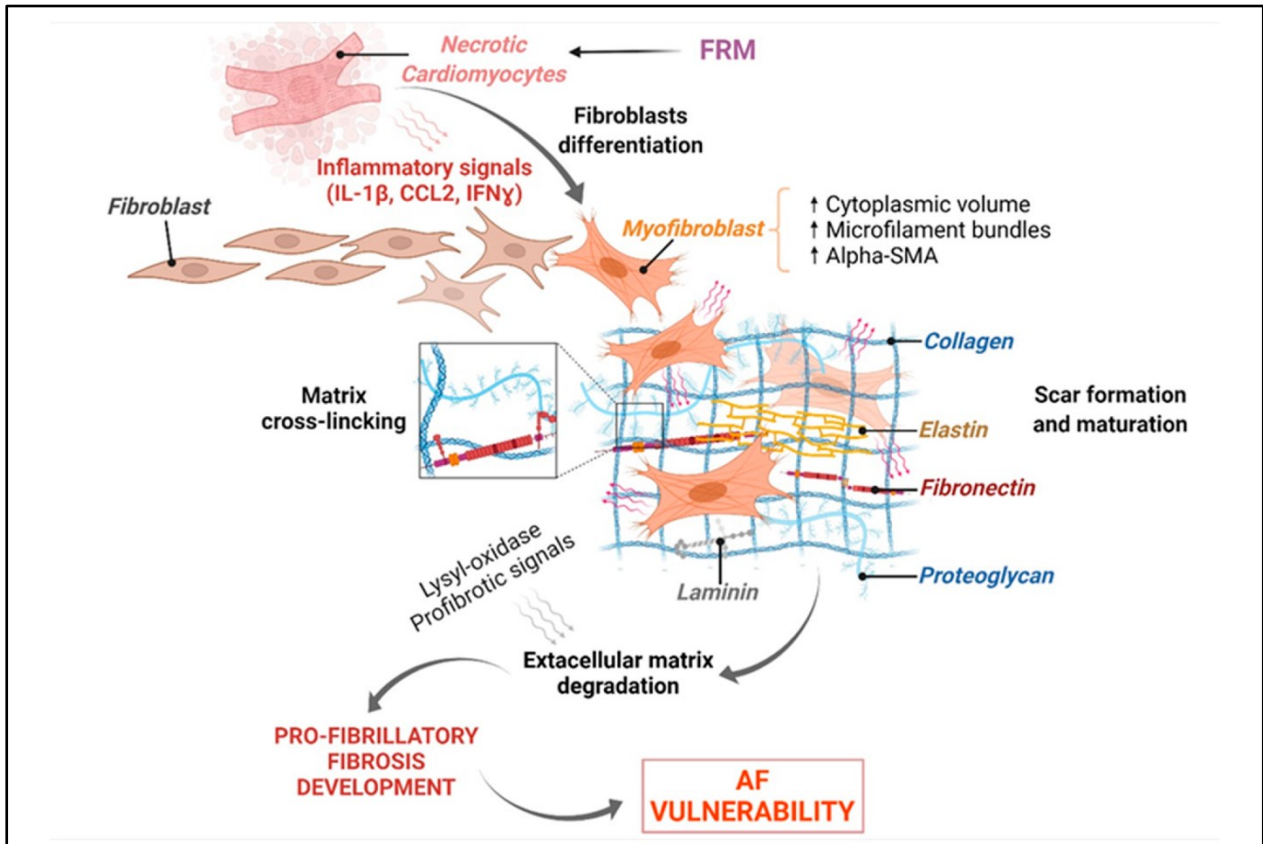


Figure 6 (Article) Cardiomyocytes and Fibroblasts' orchestration of arrhythmogenic extracellular matrix degradation

Note. During acute inflammation, failure in the occurrence of resolution mechanisms (FRM) promotes exacerbation of inflammatory signals generated from apoptotic cardiac cells and activated cardiac FB, leading to an aggravation of myocardial damages. The extracellular matrix (ECM) is intensively remodeled and degraded, promoting a persistence of fibrosis, scar formation, abnormal cardiac function, and increased risk of arrhythmias, including AF.

3.3.1. Fibroblast Response to Inflammation Initiation

Injury-induced degradation of ECM generates damage-associated molecular patterns (DAMPs) [79]. Heart injury disrupts CM's cellular membrane and leads to the release of inflammatory cytokines [79]. Binding of DAMPs to their specific pattern recognition receptors (PRR) present on leukocytes, macrophages, endothelial cells, and resident FB initiates the innate immune response by the activation of a cascade of intracellular proteins, which culminate in the activation of transcription factors such as NF- κ B [80]. This molecule is then able to translocate to the nucleus in order to initiate the transcription of genes involved in the inflammation and immune response, such as cytokines (Il-6, Il-18), chemokines (Cxcl-1, Cxcl-2), and adhesion molecules (Icam-1, Vcam-1) to induce the recruitment, activation, differentiation of inflammatory cells, and upregulate the FB expression of proteases to degrade dead cellular debris [81]. If perpetuated, these changes contribute to the differentiation, proliferation, and migration of FB, leading to the development of fibrosis, contributing to loss of cardiac function and arrhythmogenicity [13,22,81] (**Figure 7**).

3.3.2. FB-Induced Expression of Key FRM-Promoting Biomarkers

NLRP3 inflammasome. Chronic inflammation is suspected to be responsible for the development and progression of various cardiac diseases, including coronary arterial disease (CAD), myocardial infarction (MI), valvulopathy, and cardiac arrhythmias [82,83]. Mounting evidence suggests that the NLRP3 inflammasome plays a central role in modulating chronic inflammation and aggravation of heart disease progression [35,84,85]. In patients with acute myocarditis, the initiation of inflammation is associated with activation of the inflammasome in PMN, FB, and CM, correlating with the severity of heart failure [86]. In myocardial ischemia, the inflammasome aggravates tissue injury and promotes cardiac failure, while an absence or inhibition of the NLRP3 inflammasome leads to improvements in cardiac function in preclinical studies [87]. In the

CANTOS trial, inhibition of IL-1 β maturation was efficacious in secondary prevention for cardiovascular events in patients with previous MI [88]. Genetic deficiency of NLRP3 was associated with reduced expression of proinflammatory cytokines (TNF α , IL1 β , IL6), reduced secretion of proinflammatory PGE2 and LTB4, and increased expression of LXA4 and LXB4, which suggests that the presence of NLRP3 may negatively influence the LM-class switching and promote FRM during inflammation progression [89] (Figure 1, Figure 4 and Figure 7).

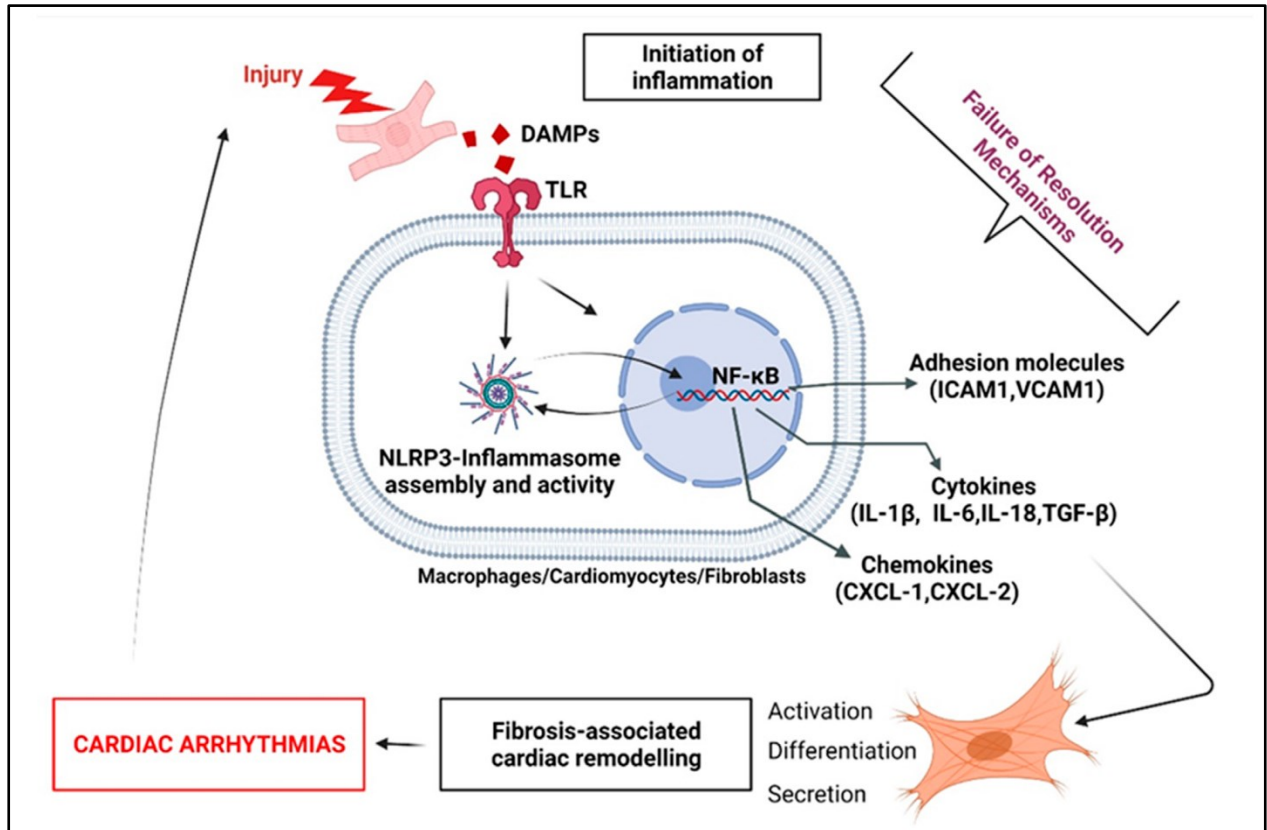


Figure 7 (Article) The central role of unresolved fibroblasts-associated inflammatory status in the development of arrhythmogenic cardiac fibrosis

Note. During acute inflammation, the initiation of inflammation is normally followed by a resolution, in order to promote homeostasis. Failure in the activation of pro-resolving signals contributes to the exacerbation of cardiac cells' release of proinflammatory stimuli. FB are highly sensitive to inflammatory agents. When activated, cardiac FB participate in increasing the production of inflammatory compounds, leading to the development of fibrosis, myocardial dysfunction and arrhythmogenicity.

Interleukin-1 β . IL-1 β secreted by leukocytes plays an important role in the activation of inflammatory and fibrogenic pathways during the healing process [90]. IL-1 β is a contributor to the pathogenesis of cardiac remodeling through the induction of inflammatory mediators' synthesis by activated leukocytes [91]. In a study performed on IL-1R $^{-/-}$ knock-out mice (not expressing IL-1 β receptor) subjected to coronary occlusion/reperfusion, the immunohistochemical staining of the infarct area with anti-alpha-smooth muscle actin (α SMA) antibodies, anti-macrophages, and anti-neutrophils showed a reduced quantity of infiltrating immune cells and myo-FB [92]. Moreover, the authors observed that animals not expressing an IL-1 β receptor had lower levels of cytokines and chemokines secreted compared to wild-type animals [92]. Furthermore, it has been shown that administration of an anti-IL-1 β neutralizing antibody, in the acute phase of non-reperfused murine MI, resulted in reduced collagen accumulation in the scar and attenuated adverse remodeling [92]. Finally, IL-1R $^{-/-}$ mice had lower FB-induced secretion of metalloproteinases (MMP-2, MMP-3) [92]. These data suggest that IL-1 β is a crucial agent in FRM and fibrosis development—a deleterious event to combat in arrhythmia prevention (**Figure 7**).

Interleukine-6. In myocardial injury, IL-6 is considered as key regulator of cardiac FB differentiation and FB-induced release of inflammatory factors implicated in amplification of the inflammatory response and tissue remodeling [93] (Figure 1 and Figure 7). In affected areas, when IL-6 binds to its specific receptor (IL-6R), it activates Hyaluronan (HA) synthase (HAS1, HAS2), which is responsible for the formation of an HA-rich environment that provides strength, lubrication, and hydration within the ECM, while regulating FB motility, proliferation, and differentiation [94,95]. In mice subjected to MI induced by LAD surgery (ligation of the left anterior descending coronary artery), antibodies against IL-6 inhibited the expression of HAS1 and HAS2 [96]. Moreover, it has been shown that the presence of α SMA-positive cells in the border zone of the infarct was markedly reduced in mice pretreated with blocking IL-6 antibodies [96]. IL-6 binding to glycoprotein (GP130) on the surface of FBs result in a downstream phosphorylation of STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) that moves to the nucleus and activates the transcription of HA-synthase in order to initiate the formation of HA. HA binding to its receptor CD44 on the FB surface contributes to the release of proinflammatory molecules such

as chemokine ligand CCL5 and monocyte chemoattractant protein 1 (MCP1: also known as CCL2) and promotes myo-FB phenotype—an FRM, pro-fibrosis, and pro-arrhythmogenic phenomenon [96].

Transforming growth factor- β . TGF- β is expressed by macrophages and cardiac FB [97]. TGF- β binds to its receptors TBRI and TBRII to initiate non-canonical pathways by the activation of p38 kinase in the cell, which in turn can activate the serum response factor (SRF) in the nucleus, to start the transcription and upregulation of TRPC6 (the transient receptor potential cation channel, subfamily C, member 6) [98]. TRPC6, located on the surface of the cell, facilitates calcium (Ca²⁺) entry, leading to the activation of calcineurin (CnA) that enhances the myofibroblastic phenotype conversion by NFAT (nuclear factor of activated T-cells) [99]. Studies have demonstrated that mice infected with recombinant adenovirus expressing TRPC6, have shown increased levels of α SMA, augmented activation of FB, and enhanced expression of fibronectin (FN) domain ED-A [73]. In addition, TRPC6 knock-out in a murine model of MI mice showed a lower count of FB conversion into myo-FB; however, there was a higher rate of mortality due to ventricular rupture because the scar formed was smaller compared with wild-type mice [73]. These data suggest that events promoting TGF- β -induced FB differentiation into myo-FB contribute to FRM and promote the development of arrhythmogenic fibrosis [73] (**Figure 7**).

The beneficial impact of inhibiting some of the above-described FRM promoters is currently being tested in clinical trials using drugs specifically directed against NLRP3 inflammasome or the IL1 proinflammatory interleukins' family, including IL1 β . Existing potential medications with promising beneficial effects to tackle NLRP3 inflammasome, IL1 β or IL8, include Canakinumab, Colchicine, Belnacasan, Pirfenidone, Tranilast, Dapansutride, Inzomelid, Somalix, or SGLT2 inhibitors [100,101,102,103,104,105,106,107]. Although these molecules show interest in various pathologies, including pulmonary fibrosis, SARS-CoV2, or Parkinson's disease, their relevance in cardiology remains an open avenue to explore [101,107] (**Table 1**).

Tableau 1 (Article) A list of potential medications targeting key FRM-promoting molecules, currently tested in clinical trials.

Medication	Role on IL1 β or/and NLRP3 Inflammasome		Ongoing Clinical Trials	
	Mode of Action	References	Clinical Trial Theme	Clinical Trial ID
Belnacasan	CASP-1 specific inhibitor, Prevents IL-1 β release	[102]	SARS-CoV-2	NCT05164120
Canakinumab	Inhibits IL-1 β	[101]	Inflammation and Cardiovascular risk	NCT02272946
Colchicine	Decreases IL-1 β , IL-18, and IL-6	[100]	Peripheral artery disease	NCT04774159
			Perioperative AF	NCT03310125
Dapansutril	Blocks NLRP3 assembly, Prevents NLRP3-induced release of IL-1 β and IL-18	[103]	Schnitzler's syndrome	NCT03595371
				NCT04540120
Inzomelid	Prevents ASC release and NLRP3 activation	[104]	Cryopyrin-Associated Periodic syndromes	EudraCT2020-000489-40
			Parkinson's disease	NCT04338997
Pirfenidone	Decreases NLRP3 and ASC expression Inhibits caspase-1 activation and Prevents IL-1 β maturation	[105]	Pulmonary Fibrosis	NCT03109288
				NCT03109288
SGLT2 inhibitors	Prevents IL-1 β release	[107]	Myocardial Infarction	NCT04899479
Somalix	Inhibits NLRP3 activation	[104]	Peripheral arterial disease	NCT04015076
Tranilast	Binds NACHT domain of NLRP3 to block NLRP3 oligomerization	[106]	Mucinoses	NCT03490708
			Cryopyrin-Associated Periodic syndromes	NCT03923140

Note. Available drugs are evaluated in ongoing clinical trials to determine their effects to inhibit NLRP3 inflammasome, IL1B, or IL18 in various conditions associated with an unresolved inflammatory status.

4. Arrhythmogenic FRM in the Context of Right Heart Disease

4.1. Generalities on RHD-Induced Arrhythmogenicity

Right ventricular (RV) hypertrophy often leads to substantial structural, functional, and electrophysiological changes in the myocardium, contributing to the development of arrhythmogenic substrate and the occurrence of ventricular and/or supraventricular arrhythmias [14,17]. When not monitored, RHD associated with electrophysiological and hemodynamic pathologies could lead to heart failure, stroke, or sudden death [14,15,16]. PAH, COPD, obesity, and obstructive sleep apnea (OSA) are conditions inducing RV hypertrophy, while also elevating the risk of AF [17,108,109,110,111]. It is important to notice that other pulmonary hypertension (PH)-related conditions that are not directly responsible for right-sided remodeling may contribute to chronic exposure of the right-heart to circulating inflammatory signals [108,109,110,111,112]. Left heart diseases (LHD) related to PH (including: PH owing to heart failure with preserved LVEF, PH owing to heart failure with reduced LVEF, valvular heart disease, and congenital or acquired cardiovascular conditions leading to post-capillary PH) are characterized by an increased risk of LA arrhythmogenic remodeling and inflammation [87,108,109,110,111,112,113,114,115,116,117,118]. Moreover, PH-related hypoxia (including developmental lung disorders, or restrictive lung disease) also contribute to cardiopulmonary inflammation and structural changes that may participate in atrial arrhythmogenic substrate [88,108,109,110,111,112,113,114,115,116,117,118]. Indeed, the chronic and deleterious rise in pressure and volume in the RV can induce tricuspid annulus plane deformation, and tricuspid regurgitation, leading to direct structural and functional effects on the right and the left atrium (RA and LA) [15,16,111]. Longstanding exposure to elevated pressure and volume leads to RA and LA tissular stretch and dilation [108,109,110,111]. Prolonged pressure/volume overload activates inflammatory stimuli produced in response to right and left atrial structural remodeling [100]. Thus, the RHD-induced FRM negatively affect the RA and also have potential arrhythmogenic structural, functional, and electrical conduction consequences that are observable on the LA [113]. In response to myocardial remodeling and inflammation, atrial FB play a crucial role in RHD-induced atrial remodeling, following the above-described mechanisms in Section 3.3 [114]. Myo-FB differentiation contribute to the formation of atrial fibrotic tissue. Fibrosis-induced atrial

remodeling includes perturbation of electrical circuits, leading to an increased risk of AF [114,115] (**Figure 1, Figure 5, Figure 6 and Figure 7**).

4.2 Resolution-Promoting Strategies in Monocrotaline and Sugen-Hypoxia Models of RHD and FRM Associated with Cardiac Arrhythmias

Conditions affecting the right heart have the potential to trigger the chronic development of atrial fibrosis and AF [115]. Various experimental models have been using animals to better understand the underlying mechanisms of AF. Respectively, the choice of studying AF in rodents, dogs, pigs, ewes, or horses have specific perks, advantages, and limitations [116]. RHD-induced cardiac arrhythmias have mostly been studied using models of provoked pulmonary embolism or pulmonary artery occlusion [114,117,118,119]. Technically, different approaches can be utilized to mimic or experimentally re-create pulmonary obstruction and sustained pressure on overload-induced RV failure [120]. Among the well described methods, we found monocrotaline (MCT) [121], chronic hypoxia chambers [122], sugen-induced hypoxia (SuHx) [123], pulmonary artery banding [124,125], or chronic thromboembolic pulmonary hypertension [126].

The available knowledge about FRM-induced arrhythmogenicity is limited in RHD-induced models of myocardial remodeling. Here we report on some very novel studies that have specifically explored the effect of resolution-promoting molecules in animal models of arrhythmia only in the context of RHD. These investigations were performed in rodent models of RHD induced by MCT and SuHx.

Monocrotaline. Monocrotaline (MCT) injections have been widely used to induce pulmonary arterial hypertension and right-sided cardiac hypertrophy and dilation in rats [110]. The ventricular arrhythmogenic aspects of MCT-induced RV hypertrophy has been described in rats [118]. Recently, it has been shown that specialized pro-resolution treatment with RvD1 can attenuate atrial fibrous content and reduce AF inducibility in rats with MCT-induced RHD and atrial dilation [114]. In 2022, Tianyou Qin and collaborators have shown that administration of Dapaglifozin, a sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitor, significantly decreased ventricular fibrosis and attenuated NFκB activity while preventing ventricular arrhythmias and VF vulnerability [127] (**Table 1**). These investigations consolidate the idea that atrial and ventricular

arrhythmias associated with RHD could be attenuated via the prevention of FRM. More studies are required to evaluate the impact of pro-resolution biomarkers promoting anti-arrhythmogenic effects in RHD.

Sugen Hypoxia. Sugen (SU5416), an antagonist of vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2), is used to induce pulmonary hypertension and RHD in rodents [128]. Sugen hypoxia (SuHx) has been shown to increase VF inducibility in rats [119]. Treatment with relaxin (RLX), a heterodimeric polypeptide hormone member of the insulin-like superfamily, prevented ventricular fibrosis and VF vulnerability in SuHx-induced RHD-rats [119]. RLX also prevented atrial fibrosis and AF in a rat model of aging and spontaneous hypertension [129,130]. Anti-arrhythmogenic effects of RLX treatment was associated with decreased expression of TGF- β , matrix metalloproteases 2 and 9 (MMP2 and MMP9), and collagenases 1 and 3 (COL1, COL3) [119,129,130], suggesting that FRM occurring in cardiac hypertensive disorders could be targeted in the management of cardiac arrhythmias (**Table 2**).

(Article) Recent resolution strategies in experimental models of RHD

Experimental Models of RHD	Resolution Strategies	Anti-Arrhythmogenic Effects	References
Monocrotaline (MCT)	Resolvin D1 (RvD1) (i.p.: 2 μ g/kg/d; 3w)	<ul style="list-style-type: none"> • \downarrow Atrial fibrosis • \downarrow Expression of IL6, TGF-β, ICAM1, IL1β NLRP3-inflammasome • \uparrow Expression of IL10, CHEMR23 • \downarrow AF susceptibility 	Hiram et al., 2021 [54]
	Dapagliflozin (DA) (per os: 60 mg/L; 4w)	<ul style="list-style-type: none"> • \downarrow Ventricular fibrosis • Prevented channelopathy • \downarrow TLR4 and NFκB activity • \downarrow VF vulnerability 	Qin et al., 2022 [127]
Sugen-Hypoxia (SuHx)	Relaxin (RLX) (sc.: 30–400 μ g/kg/d; 6w)	<ul style="list-style-type: none"> • \downarrow NRF2 and glutathione transferase • \downarrow Expression of TGF-β, MMP2, MMP9, COL1 and COL3 • \downarrow Ventricular fibrosis and VF • \downarrow Atrial fibrosis and AF 	Martin et al., 2021 [119] Parikh et al., 2013 [130]

Note. Review of recently tested resolution strategies in the treatment of arrhythmogenic structural and electrical remodeling resulting from severe pulmonary hypertension generated by MCT and SuHx in rats. RvD1 has been shown to significantly reduce atrial fibrous content while decreasing AF vulnerability in MCT rats. DA prevented ventricular arrhythmias via reduction of NF κ B activity in MCT rats. RLX prevented atrial and ventricular

fibrosis and fibrillation, while reducing the expression of notorious proinflammatory cytokines and proteins. Abbreviations: AF: Atrial Fibrillation; CHEMR23: chemerin receptor 23; COL: Collagenase; DA: dapaglifozin; ICAM1: intracellular adhesion molecule 1; IL: interleukin; i.p.: intra peritoneal; MMP: Matrix Metalloproteinase; MCT: monocrotaline; NLRP3: NACHT, LRR, and PYD domains-containing protein 3; NFκB: Nuclear Factor kappa B; NRF2: nuclear factor erythroid-derived 2; RLX: relaxin; RvD1: resolvin D1; sc.: subcutaneous; SuHx: Sugen-Hypoxia; TGF-β: Transforming Growth Factor Beta; TLR4: toll-like receptor 4; VF: Ventricular Fibrillation.

5. Conclusions

Chronic inflammation is a consequence of failure in the inflammatory-response machinery to switch from the initiation phase of inflammation into the active resolution phase mediated by SPMs. AA, DHA, and EPA-derived SPMs directly target efferocytosis promoters to prevent FRM and persistent inflammatory status. Clinical evidence demonstrating decreased plasmatic levels of SPMs in patients with chronic heart failure consolidate the concept of 'Failed Resolution Mechanisms' in progressive cardiac diseases, including RHD and AF. SPMs are potential strong therapeutic candidates that are able to promote resolution in inflammation-associated arrhythmogenic cardiac disorders.

6. Highlights

- Initiation of inflammation is required to combat cardiac insults.
- Arrhythmogenic events may include inhibition of bio-molecularly active lipid-mediator class-switching and resolution.
- Future therapeutic strategies targeting cardiac inflammation must consider the complex equation of not inhibiting the required initiation-processes of inflammation while promoting resolution mechanisms.

Author Contributions

Conceptualization, R.H.; methodology, R.Y., C.-A.L. and R.H.; validation, R.H.; investigation, R.Y., C.-A.L. and R.H.; resources, R.H.; writing—original draft preparation, R.Y., C.-A.L. and R.H.; writing—review and editing, R.H.; visualization, R.H.; supervision, R.H.; project administration, R.H.; funding acquisition, R.H. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding

This work was supported by grants from the MONTREAL HEART INSTITUTE FOUNDATION (grant number 4800), and the CANADA FOUNDATION FOR INNOVATION to R.H. (grant number 42228)

Acknowledgments

The authors are thankful to Servier Medical Art and BioRender Art Galleries that were used to create the current figures and illustrations.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Abbreviations

AF Atrial Fibrillation

CM Cardiomyocytes

ECM Extracellular Matrix

FB Cardiac Fibroblasts
FRM Failed Resolution Mechanisms
IL Interleukin
MI Myocardial Infarction
RA Right Atrium
RHD Right Heart Disease
SPMs Specialized Pro-Resolving Mediators

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. [Google Scholar] [CrossRef]
2. Hu, Y.-F.; Chen, Y.-J.; Lin, Y.-J.; Chen, S.-A. Inflammation and the pathogenesis of atrial fibrillation. *Nat. Rev. Cardiol.* 2015, 12, 230–243. [Google Scholar] [CrossRef]
3. Harada, M.; Van Wagoner, D.R.; Nattel, S. Role of Inflammation in Atrial Fibrillation Pathophysiology and Management. *Circ. J.* 2015, 79, 495–502. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
4. Hall, C.; Gehmlich, K.; Denning, C.; Pavlovic, D. Complex Relationship Between Cardiac Fibroblasts and Cardiomyocytes in Health and Disease. *J. Am. Heart Assoc.* 2021, 10, e019338. [Google Scholar] [CrossRef]
5. Prabhu, S.D.; Frangogiannis, N.G. The Biological Basis for Cardiac Repair After Myocardial Infarction: From Inflammation to Fibrosis. *Circ. Res.* 2016, 119, 91–112. [Google Scholar] [CrossRef]
6. Sugimoto, M.A.; Sousa, L.P.; Pinho, V.; Perretti, M.; Teixeira, M.M. Resolution of Inflammation: What Controls Its Onset? *Front. Immunol.* 2016, 7, 160. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
7. Sun, Z.; Zhou, D.; Xie, X.; Wang, S.; Wang, Z.; Zhao, W.; Xu, H.; Zheng, L. Cross-talk between macrophages and atrial myocytes in atrial fibrillation. *Basic Res. Cardiol.* 2016, 111, 63. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
8. Shinde, A.V.; Frangogiannis, N.G. Fibroblasts in myocardial infarction: A role in inflammation and repair. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2013, 70, 74–82. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
9. Frangogiannis, N.G. The immune system and cardiac repair. *Pharmacol. Res.* 2008, 58, 88–111. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
10. Whitehead, A.J.; Engler, A.J. Regenerative cross talk between cardiac cells and macrophages. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 2021, 320, H2211–H2221. [Google Scholar] [CrossRef]

11. Suthahar, N.; Meijers, W.C.; Silljé, H.H.W.; de Boer, R.A. From Inflammation to Fibrosis—Molecular and Cellular Mechanisms of Myocardial Tissue Remodelling and Perspectives on Differential Treatment Opportunities. *Curr. Heart Fail. Rep.* 2017, 14, 235–250. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
12. Scott, L., Jr.; Li, N.; Dobrev, D. Role of inflammatory signaling in atrial fibrillation. *Int. J. Cardiol.* 2019, 287, 195–200. [Google Scholar] [CrossRef]
13. Hiram, R. Cardiac cytokine therapy? Relevance of targeting inflammatory mediators to combat cardiac arrhythmogenic remodeling. *IJC Heart Vasc.* 2021, 37, 100918. [Google Scholar] [CrossRef]
14. Akdis, D.; Chen, K.; Saguner, A.M.; Stämpfli, S.F.; Chen, X.; Chen, L.; Rao, M.; Haegeli, L.M.; Tanner, F.C.; Brunckhorst, C.; et al. Clinical Characteristics of Patients with a Right Ventricular Thrombus in Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy. *Thromb. Haemost.* 2019, 119, 1373–1378. [Google Scholar] [CrossRef]
15. Keramida, K.; Lazaros, G.; Nihoyannopoulos, P. Right ventricular involvement in hypertrophic cardiomyopathy: Patterns and implications. *Hell. J. Cardiol.* 2018, 61, 3–8. [Google Scholar] [CrossRef]
16. Tadic, M.; Cuspidi, C.; Pencic, B.; Sljivic, A.; Ivanovic, B.; Neskovic, A.; Scepanovic, R.; Celic, V. High-normal blood pressure impacts the right heart mechanics: A three-dimensional echocardiography and two-dimensional speckle tracking imaging study. *Blood Press. Monit.* 2014, 19, 145–152. [Google Scholar] [CrossRef]
17. Waligóra, M.; Tyrka, A.; Miszalski-Jamka, T.; Urbańczyk-Zawadzka, M.; Podolec, P.; Kopeć, G. Right atrium enlargement predicts clinically significant supraventricular arrhythmia in patients with pulmonary arterial hypertension. *Heart Lung* 2018, 47, 237–242. [Google Scholar] [CrossRef]
18. Scheel, P.J., III; Murray, B.; Tichnell, C.; James, C.A.; Tandri, H.; Calkins, H.; Chelko, S.P.; Gilotra, N.A. Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy Presenting as Clinical Myocarditis in Women. *Am. J. Cardiol.* 2021, 145, 128–134. [Google Scholar] [CrossRef]

19. Sun, X.-Q.; Abbate, A.; Bogaard, H.-J. Role of cardiac inflammation in right ventricular failure. *Cardiovasc. Res.* 2017, 113, 1441–1452. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
20. Adamo, L.; Rocha-Resende, C.; Prabhu, S.D.; Mann, D.L. Reappraising the role of inflammation in heart failure. *Nat. Rev. Cardiol.* 2020, 17, 269–285, Erratum in *Nat. Rev. Cardiol.* 2021, 18, 735. [Google Scholar] [CrossRef]
21. Everett, T.H., IV; Olgin, J.E. Atrial fibrosis and the mechanisms of atrial fibrillation. *Heart Rhythm.* 2007, 4 (Suppl. 3), S24–S27. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed][Green Version]
22. Harada, M.; Nattel, S. Implications of Inflammation and Fibrosis in Atrial Fibrillation Pathophysiology. *Card. Electrophysiol. Clin.* 2021, 13, 25–35. [Google Scholar] [CrossRef]
23. Balsinde, J.; Winstead, M.V.; Dennis, E.A. Phospholipase A (2) regulation of arachidonic acid mobilization. *FEBS Lett.* 2002, 531, 2–6. [Google Scholar] [CrossRef]
24. Sofogianni, A.; Alkagiet, S.; Tziomalos, K. Lipoprotein-associated Phospholipase A2 and Coronary Heart Disease. *Curr. Pharm. Des.* 2018, 24, 291–296. [Google Scholar] [CrossRef]
25. Madjid, M.; Ali, M.; Willerson, J.T. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as a novel risk marker for cardiovascular disease: A systematic review of the literature. *Tex. Heart Inst. J.* 2010, 37, 25–39. [Google Scholar]
26. Tjoelker, L.W.; Wilder, C.; Eberhardt, C.; Stafforinit, D.M.; Dietsch, G.; Schimpf, B.; Hooper, S.; Le Trong, H.; Cousens, L.S.; Zimmerman, G.A.; et al. Anti-inflammatory properties of a platelet-activating factor acetylhydrolase. *Nature* 1995, 374, 549–553. [Google Scholar] [CrossRef]
27. Kroetz, D.L.; Zeldin, D. Cytochrome P450 pathways of arachidonic acid metabolism. *Curr. Opin. Lipidol.* 2002, 13, 273–283. [Google Scholar] [CrossRef]
28. Rossi, A.G.; O’Flaherty, J.T. Bioactions of 5-hydroxyicosatetraenoate and its interaction with platelet-activating factor. *Lipids* 1991, 26, 1184–1188. [Google Scholar] [CrossRef]
29. Marnett, L.J.; Rowlinson, S.W.; Goodwin, D.; Kalgutkar, A.S.; Lanzo, C.A. Arachidonic Acid Oxygenation by COX-1 and COX-2. *J. Biol. Chem.* 1999, 274, 22903–22906. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]

30. Vestweber, D. How leukocytes cross the vascular endothelium. *Nat. Rev. Immunol.* 2015, 15, 692–704. [Google Scholar] [CrossRef]
31. Rådmark, O.; Samuelsson, B. 5-Lipoxygenase: Mechanisms of regulation. *J. Lipid Res.* 2009, 50, S40–S45. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed][Green Version]
32. Maayah, Z.H.; El-Kadi, A.O.S. 5-, 12- and 15-Hydroxyeicosatetraenoic acids induce cellular hypertrophy in the human ventricular cardiomyocyte, RL-14 cell line, through MAPK- and NF- κ B-dependent mechanism. *Arch. Toxicol.* 2015, 90, 359–373. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
33. Zhou, Y.; Khan, H.; Xiao, J.; Cheang, W.S. Effects of Arachidonic Acid Metabolites on Cardiovascular Health and Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 12029. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
34. Kelley, N.; Jeltema, D.; Duan, Y.; He, Y. The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20, 3328. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
35. Yao, C.; Veleva, T.; Scott, L., Jr.; Cao, S.; Li, L.; Chen, G.; Jeyabal, P.; Pan, X.; Alsina, K.M.; Abu-Taha, I.; et al. Enhanced Cardiomyocyte NLRP3 Inflammasome Signaling Promotes Atrial Fibrillation. *Circulation* 2018, 138, 2227–2242. [Google Scholar] [CrossRef]
36. Pirault, J.; Bäck, M. Lipoxin and Resolvin Receptors Transducing the Resolution of Inflammation in Cardiovascular Disease. *Front. Pharmacol.* 2018, 9, 1273. [Google Scholar] [CrossRef]
37. Recchiuti, A.; Mattoscio, D.; Isopi, E. Roles, Actions, and Therapeutic Potential of Specialized Pro-resolving Lipid Mediators for the Treatment of Inflammation in Cystic Fibrosis. *Front. Pharmacol.* 2019, 10, 252. [Google Scholar] [CrossRef]
38. Fiore, S.; Brezinski, M.E.; Sheppard, K.-A.; Serhan, C.N. The Lipoxin Biosynthetic Circuit and their Actions with Human Neutrophils. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1991, 314, 109–132. [Google Scholar] [CrossRef]
39. Levy, B.D.; Clish, C.; ASchmidt, B.; Gronert, K.; Serhan, C.N. Lipid mediator class switching during acute inflammation: Signals in resolution. *Nat. Immunol.* 2001, 2, 612–619. [Google Scholar] [CrossRef]

40. Reina-Couto, M.; Carvalho, J.; Valente, M.J.; Vale, L.; Afonso, J.; Carvalho, F.; Bettencourt, P.; Sousa, T.; Albino-Teixeira, A. Impaired resolution of inflammation in human chronic heart failure. *Eur. J. Clin. Investig.* 2014, 44, 527–538. [Google Scholar] [CrossRef]
41. Shi, Y.; Pan, H.; Zhang, H.-Z.; Zhao, X.-Y.; Jin, J.; Wang, H.-Y. Lipoxin A4 mitigates experimental autoimmune myocarditis by regulating inflammatory response, NF- κ B and PI3K/Akt signaling pathway in mice. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2017, 21, 1850–1859. [Google Scholar] [PubMed]
42. Kain, V.; Liu, F.; Kozlovskaya, V.; Ingle, K.A.; Bolisetty, S.; Agarwal, A.; Khedkar, S.; Prabhu, S.D.; Kharlampieva, E.; Halade, G.V. Resolution Agonist 15-epi-Lipoxin A4 Programs Early Activation of Resolving Phase in Post-Myocardial Infarction Healing. *Sci. Rep.* 2017, 7, 9999. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
43. Ishihara, T.; Yoshida, M.; Arita, M. Omega-3 fatty acid-derived mediators that control inflammation and tissue homeostasis. *Int. Immunol.* 2019, 31, 559–567. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed][Green Version]
44. Cairns, J.A. The coxibs and traditional nonsteroidal anti-inflammatory drugs: A current perspective on cardiovascular risks. *Can. J. Cardiol.* 2007, 23, 125–131. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
45. El Kebir, D.; Gjorstrup, P.; Filep, J.G. Resolvin E1 promotes phagocytosis-induced neutrophil apoptosis and accelerates resolution of pulmonary inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2012, 109, 14983–14988. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed][Green Version]
46. Serhan, C.N.; Arita, M.; Hong, S.; Gotlinger, K. Resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins, novel omega-3-derived mediators, and their aspirin-triggered endogenous epimers: An overview of their protective roles in catabasis. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2004, 73, 155–172. [Google Scholar] [CrossRef]
47. Duvall, M.G.; Levy, B.D. DHA- and EPA-derived resolvins, protectins, and maresins in airway inflammation. *Eur. J. Pharmacol.* 2015, 785, 144–155. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]

48. Ricciotti, E.; FitzGerald, G.A. Prostaglandins and inflammation. *Arter. Thromb. Vasc. Biol.* 2011, 31, 986–1000. [Google Scholar] [CrossRef]
49. Oni-Orisan, A.; Alsaleh, N.; Lee, C.R.; Seubert, J.M. Epoxyeicosatrienoic acids and cardioprotection: The road to translation. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2014, 74, 199–208. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
50. Serhan, C.N.; Gupta, S.K.; Perretti, M.; Godson, C.; Brennan, E.; Li, Y.; Soehnlein, O.; Shimizu, T.; Werz, O.; Chiurchiù, V.; et al. The Atlas of Inflammation Resolution (AIR). *Mol. Asp. Med.* 2020, 74, 100894. [Google Scholar] [CrossRef]
51. Furman, D.; Campisi, J.; Verdin, E.; Carrera-Bastos, P.; Targ, S.; Franceschi, C.; Ferrucci, L.; Gilroy, D.W.; Fasano, A.; Miller, G.W.; et al. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat. Med.* 2019, 25, 1822–1832. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
52. Qu, X.; Zhang, X.; Yao, J.; Song, J.; Nikolic-Paterson, D.J.; Li, J. Resolvins E1 and D1 inhibit interstitial fibrosis in the obstructed kidney via inhibition of local fibroblast proliferation. *J. Pathol.* 2012, 228, 506–519. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
53. Kain, V.; Ingle, K.A.; Colas, R.A.; Dalli, J.; Prabhu, S.D.; Serhan, C.N.; Joshi, M.D.; Halade, G.V. Resolvin D1 activates the inflammation resolving response at splenic and ventricular site following myocardial infarction leading to improved ventricular function. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2015, 84, 24–35. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed][Green Version]
54. Hiram, R.; Xiong, F.; Naud, P.; Xiao, J.; Sirois, M.; Tanguay, J.-F.; Tardif, J.-C.; Nattel, S. The inflammation-resolution promoting molecule resolvin-D1 prevents atrial proarrhythmic remodelling in experimental right heart disease. *Cardiovasc. Res.* 2020, 117, 1776–1789. [Google Scholar] [CrossRef]
55. Hiram, R. Resolution-promoting autacoids demonstrate promising cardioprotective effects against heart diseases. *Mol. Biol. Rep.* 2022, 1–19, ahead of print. [Google Scholar] [CrossRef]
56. Karam, B.S.; Chavez-Moreno, A.; Koh, W.; Akar, J.G.; Akar, F.G. Oxidative stress and inflammation as central mediators of atrial fibrillation in obesity and diabetes. *Cardiovasc. Diabetol.* 2017, 16, 120. [Google Scholar] [CrossRef]

57. Gesualdo, M.; Scicchitano, P.; Carbonara, S.; Ricci, G.; Principi, M.; Ierardi, E.; Di Leo, A.; Cortese, F.; Ciccone, M.M. The association between cardiac and gastrointestinal disorders: Causal or casual link? *J. Cardiovasc. Med.* 2016, *17*, 330–338. [Google Scholar] [CrossRef]
58. Potpara, T.S.; Jokic, V.; Dages, N.; Marin, F.; Prostran, M.S.; Blomstrom-Lundqvist, C.; Lip, G.Y. Cardiac Arrhythmias in Patients with Chronic Kidney Disease: Implications of Renal Failure for Antiarrhythmic Drug Therapy. *Curr. Med. Chem.* 2016, *23*, 2070–2083. [Google Scholar] [CrossRef]
59. Mozos, I. Arrhythmia risk in liver cirrhosis. *World J. Hepatol.* 2015, *7*, 662–672. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
60. Alonso, A.; Arenas de Larriva, A.P. Atrial Fibrillation, Cognitive Decline and Dementia. *Eur. Cardiol.* 2016, *11*, 49–53. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
61. Lazzerini, P.E.; Laghi-Pasini, F.; Boutjdir, M.; Capecchi, P.L. Inflammatory cytokines and cardiac arrhythmias: The lesson from COVID-19. *Nat. Rev. Immunol.* 2022, *1–3*, ahead of print. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
62. Lazzerini, P.E.; Capecchi, P.L.; Laghi-Pasini, F. Systemic inflammation and arrhythmic risk: Lessons from rheumatoid arthritis. *Eur. Heart J.* 2016, *38*, 1717–1727. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
63. Aguilar, M.; Dobrev, D.; Nattel, S. Postoperative Atrial Fibrillation: Features, Mechanisms, and Clinical Management. *Card. Electrophysiol. Clin.* 2021, *13*, 123–132. [Google Scholar] [CrossRef]
64. Nattel, S.; Heijman, J.; Zhou, L.; Dobrev, D. Molecular Basis of Atrial Fibrillation Pathophysiology and Therapy: A Translational Perspective. *Circ. Res.* 2020, *127*, 51–72. [Google Scholar] [CrossRef]
65. Carballo, S.; Pfenniger, A.; Carballo, D.; Garin, N.; James, R.W.; Mach, F.; Shah, D.; Kwak, B.R. Differential Association of Cx37 and Cx40 Genetic Variants in Atrial Fibrillation with and without Underlying Structural Heart Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2018, *19*, 295. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
66. Nofi, C.; Zhang, K.; Tang, Y.D.; Li, Y.; Migirov, A.; Ojamaa, K.; Gerdes, A.M.; Zhang, Y. Chronic dantrolene treatment attenuates cardiac dysfunction and reduces atrial

- fibrillation inducibility in a rat myocardial infarction heart failure model. *Heart Rhythm* 2020, 1, 126–135. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
67. Sardu, C.; Santulli, G.; Guerra, G.; Trotta, M.C.; Santamaria, M.; Sacra, C.; Testa, N.; Ducceschi, V.; Gatta, G.; Amico, M.D.; et al. Modulation of SERCA in Patients with Persistent Atrial Fibrillation Treated by Epicardial Thoracoscopic Ablation: The CAMAF Study. *J. Clin. Med.* 2020, 9, 544. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
68. Nso, N.; Bookani, K.R.; Metz, M.; Radparvar, F. Role of inflammation in atrial fibrillation: A comprehensive review of current knowledge. *J. Arrhythmia* 2020, 37, 1–10. [Google Scholar] [CrossRef]
69. Silva, A.C.; Pereira, C.; Fonseca, A.C.R.G.; Pinto-Do-Ó, P.; Nascimento, D.S. Bearing My Heart: The Role of Extracellular Matrix on Cardiac Development, Homeostasis, and Injury Response. *Front. Cell Dev. Biol.* 2021, 8, 1705. [Google Scholar] [CrossRef]
70. Deb, A.; Ubil, E. Cardiac fibroblast in development and wound healing. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2014, 70, 47–55. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
71. Burke, R.M.; Villar, K.N.B.; Small, E.M. Fibroblast contributions to ischemic cardiac remodeling. *Cell. Signal.* 2020, 77, 109824. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
72. Shinde, A.V.; Humeres, C.; Frangogiannis, N.G. The role of α -smooth muscle actin in fibroblast-mediated matrix contraction and remodeling. *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Mol. Basis Dis.* 2016, 1863, 298–309. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
73. Davis, J.; Burr, A.R.; Davis, G.F.; Birnbaumer, L.; Molkentin, J.D. A TRPC6-Dependent Pathway for Myofibroblast Transdifferentiation and Wound Healing In Vivo. *Dev. Cell* 2012, 23, 705–715. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed][Green Version]
74. Ma, Y.; Brás, L.E.D.C.; Toba, H.; Iyer, R.P.; Hall, M.E.; Winniford, M.D.; Lange, R.A.; Tyagi, S.C.; Lindsey, M.L. Myofibroblasts and the extracellular matrix network in post-myocardial infarction cardiac remodeling. *Pflug. Arch. Eur. J. Physiol.* 2014, 466, 1113–1127. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed][Green Version]
75. Al-U’Datt, D.G.; Allen, B.G.; Hiram, R.; Alrabadi, N. Current knowledge into the role of the peptidylarginine deiminase (PAD) enzyme family in cardiovascular disease. *Eur. J. Pharmacol.* 2020, 891, 173765. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]

76. Li, X.; Tang, X.; Liu, B.; Zhang, J.; Zhang, Y.; Lv, H.; Liu, D.; Mehta, J.L.; Wang, X. LOX-1 Deletion Attenuates Myocardial Fibrosis in the Aged Mice, Particularly Those with Hypertension. *Front. Cardiovasc. Med.* 2021, 8, 1305. [Google Scholar] [CrossRef]
77. Liu, J.; Wang, H.; Li, J. Inflammation and Inflammatory Cells in Myocardial Infarction and Reperfusion Injury: A Double-Edged Sword. *Clin. Med. Insights Cardiol.* 2016, 10, CMC.S33164. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
78. Richardson, W.J.; Clarke, S.A.; Quinn, T.A.; Holmes, J.W. Physiological Implications of Myocardial Scar Structure. *Compr. Physiol.* 2015, 5, 1877–1909. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
79. Silvis, M.J.M.; Dengler, S.E.K.G.; Odille, C.A.; Mishra, M.; Van Der Kaaij, N.P.; Doevendans, P.A.; Sluijter, J.P.G.; De Kleijn, D.P.V.; De Jager, S.C.A.; Bosch, L.; et al. Damage-Associated Molecular Patterns in Myocardial Infarction and Heart Transplantation: The Road to Translational Success. *Front. Immunol.* 2020, 11, 3135. [Google Scholar] [CrossRef]
80. Rivera-Serrano, E.E.; Sherry, B. NF- κ B activation is cell type-specific in the heart. *Virology* 2017, 502, 133–143. [Google Scholar] [CrossRef]
81. Carrillo-Salinas, F.J.; Ngwenyama, N.; Anastasiou, M.; Kaur, K.; Alcaide, P. Heart Inflammation: Immune Cell Roles and Roads to the Heart. *Am. J. Pathol.* 2019, 189, 1482–1494. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed][Green Version]
82. Golia, E.; Limongelli, G.; Natale, F.; Fimiani, F.; Maddaloni, V.; Pariggiano, I.; Bianchi, R.; Crisci, M.; D’Acierno, L.; Giordano, R.; et al. Inflammation and Cardiovascular Disease: From Pathogenesis to Therapeutic Target. *Curr. Atheroscler. Rep.* 2014, 16, 435. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
83. Mahler, G.J.; Butcher, J.T. Inflammatory Regulation of Valvular Remodeling: The Good(?), the Bad, and the Ugly. *Int. J. Inflamm.* 2011, 2011, 721419. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed][Green Version]
84. Butts, B.; Gary, R.A.; Dunbar, S.B.; Butler, J. The Importance of NLRP3 Inflammasome in Heart Failure. *J. Card. Fail.* 2015, 21, 586–593. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed][Green Version]

85. Mezzaroma, E.; Toldo, S.; Farkas, D.; Seropian, I.M.; Van Tassell, B.W.; Salloum, F.N.; Kannan, H.R.; Menna, A.C.; Voelkel, N.F.; Abbate, A. The inflammasome promotes adverse cardiac remodeling following acute myocardial infarction in the mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2011, 108, 19725–19730. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
86. Toldo, S.; Kannan, H.; Bussani, R.; Anzini, M.; Sonnino, C.; Sinagra, G.; Merlo, M.; Mezzaroma, E.; De Giorgio, F.; Silvestri, F.; et al. Formation of the inflammasome in acute myocarditis. *Int. J. Cardiol.* 2014, 171, e119–e121. [Google Scholar] [CrossRef]
87. Louwe, M.C.; Olsen, M.B.; Kaasbøll, O.J.; Yang, K.; Fosshaug, L.E.; Alfsnes, K.; Øgaard, J.D.; Rashidi, A.; Skulberg, V.M.; Yang, M.; et al. Absence of NLRP3 Inflammasome in Hematopoietic Cells Reduces Adverse Remodeling after Experimental Myocardial Infarction. *JACC Basic Transl. Sci.* 2020, 5, 1210–1224. [Google Scholar] [CrossRef]
88. Baylis, R.A.; Gomez, D.; Mallat, Z.; Pasterkamp, G.; Owens, G.K. The CANTOS Trial: One Important Step for Clinical Cardiology but a Giant Leap for Vascular Biology. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2019, 37, e174–e177. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
89. Lee, S.; Nakahira, K.; Dalli, J.; Siempos, I.I.; Norris, P.C.; Colas, R.A.; Moon, J.-S.; Shinohara, M.; Hisata, S.; Howrylak, J.A.; et al. NLRP3 Inflammasome Deficiency Protects against Microbial Sepsis via Increased Lipoxin B4 Synthesis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2017, 196, 713–726. [Google Scholar] [CrossRef]
90. Weber, A.; Wasiliew, P.; Kracht, M. Interleukin-1 (IL-1) Pathway. *Sci. Signal.* 2010, 3, cm1. [Google Scholar] [CrossRef]
91. Szekely, Y.; Arbel, Y. A Review of Interleukin-1 in Heart Disease: Where Do We Stand Today? *Cardiol. Ther.* 2018, 7, 25–44. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed][Green Version]
92. Bujak, M.; Dobaczewski, M.; Chatila, K.; Mendoza, L.H.; Li, N.; Reddy, A.; Frangogiannis, N. Interleukin-1 Receptor Type I Signaling Critically Regulates Infarct Healing and Cardiac Remodeling. *Am. J. Pathol.* 2008, 173, 57–67. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed][Green Version]
93. Wang, J.H.; Zhao, L.; Pan, X.; Chen, N.N.; Chen, J.; Gong, Q.L.; Su, F.; Yan, J.; Zhang, Y.; Zhang, S.H. Hypoxia-stimulated cardiac fibroblast production of IL-6 promotes myocardial

- fibrosis via the TGF- β 1 signaling pathway. *Lab. Investig.* 2016, 96, 839–852, Erratum in *Lab. Investig.* 2016, 96, 1035. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
94. Rooney, P.; Srivastava, A.; Watson, L.; Quinlan, L.R.; Pandit, A. Hyaluronic acid decreases IL-6 and IL-8 secretion and permeability in an inflammatory model of interstitial cystitis. *Acta Biomater.* 2015, 19, 66–75. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
95. Vistejnova, L.; Safrankova, B.; Nesporova, K.; Slavkovsky, R.; Hermannova, M.; Hosek, P.; Velebny, V.; Kubala, L. Low molecular weight hyaluronan mediated CD44 dependent induction of IL-6 and chemokines in human dermal fibroblasts potentiates innate immune response. *Cytokine* 2014, 70, 97–103. [Google Scholar] [CrossRef]
96. Müller, J.; Gorressen, S.; Grandoch, M.; Feldmann, K.; Kretschmer, I.; Lehr, S.; Ding, Z.; Schmitt, J.P.; Schrader, J.; Garbers, C.; et al. Interleukin-6-dependent phenotypic modulation of cardiac fibroblasts after acute myocardial infarction. *Basic Res. Cardiol.* 2014, 109, 440. [Google Scholar] [CrossRef]
97. Hanna, A.; Frangogiannis, N.G. The Role of the TGF- β Superfamily in Myocardial Infarction. *Front. Cardiovasc. Med.* 2019, 6, 140. [Google Scholar] [CrossRef]
98. Dobaczewski, M.; Chen, W.; Frangogiannis, N.G. Transforming growth factor (TGF)- β signaling in cardiac remodeling. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2011, 51, 600–606. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
99. Lin, B.L.; Matera, D.; Doerner, J.F.; Zheng, N.; del Camino, D.; Mishra, S.; Bian, H.; Zeveleva, S.; Zhen, X.; Blair, N.T.; et al. In vivo selective inhibition of TRPC6 by antagonist BI 749327 ameliorates fibrosis and dysfunction in cardiac and renal disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2019, 116, 10156–10161. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
100. Martínez, G.J.; Robertson, S.; Barraclough, J.; Xia, Q.; Mallat, Z.; Bursill, C.; Celermajer, D.S.; Patel, S. Colchicine Acutely Suppresses Local Cardiac Production of Inflammatory Cytokines in Patients with an Acute Coronary Syndrome. *J. Am. Heart Assoc.* 2015, 4, e002128. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
101. Ridker, P.M.; Everett, B.M.; Thuren, T.; MacFadyen, J.G.; Chang, W.H.; Ballantyne, C.; Fonseca, F.; Nicolau, J.; Koenig, W.; Anker, S.D.; et al. Antiinflammatory Therapy with

- Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N. Engl. J. Med.* 2017, 377, 1119–1131. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
102. Lyu, H.; Ni, H.; Huang, J.; Yu, G.; Zhang, Z.; Zhang, Q. VX-765 prevents intestinal ischemia-reperfusion injury by inhibiting NLRP3 inflammasome. *Tissue Cell* 2021, 75, 101718. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
103. Marchetti, C.; Swartzwelter, B.; Gamboni, F.; Neff, C.P.; Richter, K.; Azam, T.; Carta, S.; Tengesdal, I.; Nemkov, T.; D'Alessandro, A.; et al. OLT1177, a β -sulfonyl nitrile compound, safe in humans, inhibits the NLRP3 inflammasome and reverses the metabolic cost of inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2018, 115, E1530–E1539. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed][Green Version]
104. El-Sharkawy, L.Y.; Brough, D.; Freeman, S. Inhibiting the NLRP3 Inflammasome. *Molecules* 2020, 25, 5533. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
105. Li, Y.; Li, H.; Liu, S.; Pan, P.; Su, X.; Tan, H.; Wu, D.; Zhang, L.; Song, C.; Dai, M.; et al. Pirfenidone ameliorates lipopolysaccharide-induced pulmonary inflammation and fibrosis by blocking NLRP3 inflammasome activation. *Mol. Immunol.* 2018, 99, 134–144. [Google Scholar] [CrossRef]
106. Martin, J.; Kelly, D.J.; Mifsud, S.A.; Zhang, Y.; Cox, A.J.; See, F.; Krum, H.; Wilkinson-Berka, J.; Gilbert, R.E. Tranilast attenuates cardiac matrix deposition in experimental diabetes: Role of transforming growth factor-beta. *Cardiovasc. Res.* 2005, 65, 694–701. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
107. Kim, S.R.; Lee, S.G.; Kim, S.H.; Kim, J.H.; Choi, E.; Cho, W.; Rim, J.H.; Hwang, I.; Lee, C.J.; Lee, M.; et al. SGLT2 inhibition modulates NLRP3 inflammasome activity via ketones and insulin in diabetes with cardiovascular disease. *Nat. Commun.* 2020, 11, 2127. [Google Scholar] [CrossRef]
108. Capulzini, L.; Brugada, P.; Brugada, J.; Brugada, R. Arrhythmia and Right Heart Disease: From Genetic Basis to Clinical Practice. *Rev. Esp. Cardiol.* 2010, 63, 963–983. [Google Scholar] [CrossRef]
109. Churchill, T.W.; Baggish, A.L. The Right Heart: Acute and Chronic Issues. *Curr. Treat. Options Cardiovasc. Med.* 2017, 19, 83. [Google Scholar] [CrossRef]

110. Gandjbakhch, E.; Redheuil, A.; Pousset, F.; Charron, P.; Frank, R. Clinical Diagnosis, Imaging, and Genetics of Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy/Dysplasia: JACC State-of-the-Art Review. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2018, 72, 784–804. [Google Scholar] [CrossRef]
111. Goedemans, L.; Leung, M.; van der Bijl, P.; Abou, R.; Vo, N.M.; Marsan, N.A.; Delgado, V.; Bax, J.J. Influence of Chronic Obstructive Pulmonary Disease on Atrial Mechanics by Speckle Tracking Echocardiography in Patients with Atrial Fibrillation. *Am. J. Cardiol.* 2020, 143, 60–66. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
112. Hiram, R.; Provencher, S. Pulmonary Disease, Pulmonary Hypertension and Atrial Fibrillation. *Card. Electrophysiol. Clin.* 2021, 13, 141–153. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
113. Samak, M.; Fatullayev, J.; Sabashnikov, A.; Zerriouh, M.; Schmack, B.; Farag, M.; Popov, A.-F.; Dohmen, P.M.; Choi, Y.-H.; Wahlers, T.; et al. Cardiac Hypertrophy: An Introduction to Molecular and Cellular Basis. *Med. Sci. Monit. Basic Res.* 2016, 22, 75–79. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed][Green Version]
114. Hiram, R.; Naud, P.; Xiong, F.; Al-U’Datt, D.; Algalarrondo, V.; Sirois, M.G.; Tanguay, J.-F.; Tardif, J.-C.; Nattel, S. Right Atrial Mechanisms of Atrial Fibrillation in a Rat Model of Right Heart Disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2019, 74, 1332–1347. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
115. Medi, C.; Kalman, J.M.; Ling, L.-H.; Teh, A.W.; Lee, G.; Lee, G.; Spence, S.J.; Kaye, D.M.; Kistler, P.M. Atrial Electrical and Structural Remodeling Associated with Longstanding Pulmonary Hypertension and Right Ventricular Hypertrophy in Humans. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2012, 23, 614–620. [Google Scholar] [CrossRef]
116. Schüttler, D.; Bapat, A.; Kääb, S.; Lee, K.; Tomsits, P.; Clauss, S.; Hucker, W.J. Animal Models of Atrial Fibrillation. *Circ. Res.* 2020, 127, 91–110. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
117. Rajdev, A.; Garan, H.; Biviano, A. Arrhythmias in Pulmonary Arterial Hypertension. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2012, 55, 180–186. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]

118. Benoist, D.; Stones, R.; Drinkhill, M.J.; Benson, A.P.; Yang, Z.; Cassan, C.; Gilbert, S.H.; Saint, D.A.; Cazorla, O.; Steele, D.S.; et al. Cardiac arrhythmia mechanisms in rats with heart failure induced by pulmonary hypertension. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 2012, 302, H2381–H2395. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
119. Martin, B.; Vanderpool, R.R.; Henry, B.L.; Palma, J.B.; Gabris, B.; Lai, Y.-C.; Hu, J.; Tofovic, S.P.; Reddy, R.P.; Mora, A.L.; et al. Relaxin Inhibits Ventricular Arrhythmia and Asystole in Rats with Pulmonary Arterial Hypertension. *Front. Cardiovasc. Med.* 2021, 8, 663. [Google Scholar] [CrossRef]
120. Andersen, A.; van der Feen, D.E.; Andersen, S.; Schultz, J.G.; Hansmann, G.; Bogaard, H.J. Animal models of right heart failure. *Cardiovasc. Diagn. Ther.* 2020, 10, 1561–1579. [Google Scholar] [CrossRef]
121. Hessel, M.H.M.; Steendijk, P.; Adel, B.D.; Schutte, C.I.; Van Der Laarse, A. Characterization of right ventricular function after monocrotaline-induced pulmonary hypertension in the intact rat. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 2006, 291, H2424–H2430. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
122. Rabinovitch, M.; Gamble, W.; Nadas, A.S.; Miettinen, O.S.; Reid, L. Rat pulmonary circulation after chronic hypoxia: Hemodynamic and structural features. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 1979, 236, H818–H827. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed][Green Version]
123. Taraseviciene-Stewart, L.; Nicolls, M.R.; Kraskauskas, D.; Scerbavicius, R.; Burns, N.; Cool, C.; Wood, K.; Parr, J.E.; Boackle, S.A.; Voelkel, N.F. Absence of T Cells Confers Increased Pulmonary Arterial Hypertension and Vascular Remodeling. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007, 175, 1280–1289. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed][Green Version]
124. Gupta, S.C.; Varian, K.D.; Bal, N.C.; Abraham, J.L.; Periasamy, M.; Janssen, P.M.L. Pulmonary artery banding alters the expression of Ca²⁺ transport proteins in the right atrium in rabbits. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 2009, 296, H1933–H1939. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
125. Akazawa, Y.; Okumura, K.; Ishii, R.; Slorach, C.; Hui, W.; Ide, H.; Honjo, O.; Sun, M.; Kabir, M.G.; Connelly, K.; et al. Pulmonary artery banding is a relevant model to study the

- right ventricular remodeling and dysfunction that occurs in pulmonary arterial hypertension. *J. Appl. Physiol.* 2020, 129, 238–246. [Google Scholar] [CrossRef]
126. Arias-Loza, P.-A.; Jung, P.; Abeßer, M.; Umbenhauer, S.; Williams, T.; Frantz, S.; Schuh, K.; Pelzer, T. Development and Characterization of an Inducible Rat Model of Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension. *Hypertension* 2016, 67, 1000–1005. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
127. Qin, T.; Kong, B.; Dai, C.; Xiao, Z.; Fang, J.; Shuai, W.; Huang, H. Protective effects of Dapagliflozin on the vulnerability of ventricular arrhythmia in rats with pulmonary artery hypertension induced by monocrotaline. *Bioengineered* 2022, 13, 2697–2709. [Google Scholar] [CrossRef]
128. Vitali, S.H.; Hansmann, G.; Rose, C.; Fernandez-Gonzalez, A.; Scheid, A.; Mitsialis, S.A.; Kourembanas, S. The Sugen 5416/hypoxia mouse model of pulmonary hypertension revisited: Long-term follow-up. *Pulm. Circ.* 2014, 4, 619–629. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
129. Henry, B.L.; Gabris, B.; Li, Q.; Martin, B.; Giannini, M.; Parikh, A.; Patel, D.; Haney, J.; Schwartzman, D.S.; Shroff, S.G.; et al. Relaxin suppresses atrial fibrillation in aged rats by reversing fibrosis and upregulating Na⁺ channels. *Heart Rhythm.* 2016, 13, 983–991. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]
130. Parikh, A.; Patel, D.; McTiernan, C.F.; Xiang, W.; Haney, J.; Yang, L.; Lin, B.; Kaplan, A.D.; Bett, G.; Rasmusson, R.L.; et al. Relaxin Suppresses Atrial Fibrillation by Reversing Fibrosis and Myocyte Hypertrophy and Increasing Conduction Velocity and Sodium Current in Spontaneously Hypertensive Rat Hearts. *Circ. Res.* 2013, 113, 313–321. [Google Scholar] [CrossRef][Green Version]